

**Einfluss des Lebensalters auf die
beatmungsinduzierte Lungenschädigung
Eine tierexperimentelle Studie**

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von
Karsten Oschatz
geboren am 09.01.1980
in Weimar**

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Konrad Reinhart, Jena
2. Prof. Dr. med. Marie von Lilienfeld- Toal, Jena
3. Prof. Dr. med. Hermann Wrigge, Leipzig

Tag der öffentlichen Verteidigung: 30.09.2014

Verzeichnis der Abkürzungen

ARDS	<i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i> , akutes Lungenversagen
ALI	<i>Acute Lung Injury</i>
AZV	Atemzugvolumen
BAL	bronchoalveoläre Lavage, Gewinnung von Sekret aus der Lunge zu Untersuchungszwecken
BALF	bronchoalveoläre Lavageflüssigkeit
BD	Blutdruck
BGA	Blutgasanalyse
bpm	<i>beats per minute</i> , Schläge pro Minute
cmH₂O	Zentimeter Wassersäule, Druckeinheit, 1cmH ₂ O entspricht 1mbar
ECMO	extrakorporale Membranoxygenierung, Lungenersatzverfahren
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> , immunologisches Nachweisverfahren
et al.	und andere / und Mitarbeiter
FiO₂	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
FSU	Friedrich- Schiller- Universität (Jena)
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
HF	Herzfrequenz
HZV	Herzzeitvolumen
IFN	Interferon, immunstimulierendes Protein
IL	Interleukin, körpereigene Botenstoffe zwischen den Zellen des Immunsystems aus der Gruppe der Zytokine
i. S.	im Serum
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
mbar	Millibar, Druckeinheit 1mbar entspricht 1cmH ₂ O
MIP 2	<i>Macrophage Inflammatory Protein 2</i> , Botenstoff des Immunsystems aus der Gruppe der Chemokine
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule, 1mmHg = 1,3mbar = 1,33cmH ₂ O
NK-Zelle	Natürliche Killerzelle, eine Art von Lymphozyten
p	p-Wert, statistischer Signifikanzwert
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> , isotonische phoshatgepufferte Salzlösung
pg	Pikogramm 1pg=0,000 000 000 001g

paO₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
paCO₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
rpm	<i>revolutions per minute</i> , Umdrehungen pro Minute
PEEP	<i>positive end-expiratory pressure</i> , positiver endexpiratorischer Druck
PMNL	<i>Polymorphonuclear Leukocyte</i> , polymorphkerniger Leukozyt, Granulozyt
SaO₂	Sauerstoffsättigung im arteriellen Blut
SEM	<i>standard error of the mean</i> , Standardfehler
SIRS	<i>Systemic inflammatory response syndrome</i> , systemische Entzündungsreaktion
TH	T-Helferzelle
TNF alpha	Tumornekrosefaktor alpha, Signalstoff des Immunsystems, ein Zytokin
VALI	<i>Ventilator- associated lung injury</i> , beatmungsassoziierte Lungenschädigung
VILI	<i>Ventilator- induced lung injury</i> , beatmungsinduzierte Lungenschädigung
Vt	Tidalvolumen, Atemzugvolumen
ZVD	zentraler Venendruck

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung	6
2. Einleitung	
2.1. Übersicht: Positive und negative Effekte der künstlichen Beatmung	8
2.2. Beatmungsinduzierte Lungenschädigung: Terminologie und Mechanismen	10
2.3. Effekte des Alters auf die beatmungsassoziierte Lungenschädigung	17
3. Ziele und Fragestellung der Untersuchung	19
4. Material und Methoden	
4.1. Versuchstiere	20
4.2. Studiengruppen	20
4.3. Versuchsablauf	21
4.4. Versuchsdurchführung	22
4.5. Messmethoden und Probengewinnung	26
4.6. Statistische Auswertung	29
5. Ergebnisse	
5.1. Hämodynamische Parameter während der Beatmungsphase	31
5.2. Arterielle Blutgasanalyse während der Beatmungsphase	35
5.3. Atemwegsdrücke	39
5.4. Ergebnisse der bronchoalveolären Lavage	41
5.5. Verhältnis des Nass- und Trockengewichtes (wet/dry- ratio) der Lunge	45
5.6. Statische Druck-Volumenkurven nach der Beatmungsphase	46
5.7. Entzündungsparameter im Blut während der Beatmungsphase	47
5.8. Mortalität während der Beatmungsphase	51
6. Diskussion	
6.1. Diskussion des experimentellen Settings	52
6.2. Diskussion der Ergebnisse	54
6.3. Diskussion der Ergebnisse der Studie im Kontext der bisherigen Datenlage	56
6.4. Limitierung und Schwächen der Studie	57
6.5. Schlussfolgerung und Ausblick	58
7. Literaturverzeichnis	xx
8. Anhang	xx

1. Zusammenfassung

Künstliche Beatmung ist intensivmedizinisch essentiell und lebensrettend. Schon seit längerem ist aber bekannt, dass Überdruckbeatmung an sich eine Lungenschädigung hervorrufen bzw. eine bereits bestehende Lungenerkrankung wie z.B. das ARDS- *Acute Respiratory Distress Syndrome* verschlimmern kann. Man spricht von VALI- *Ventilator- associated lung injury* im klinischen Sprachgebrauch, oder VILI- *Ventilator- induced lung injury*, wenn experimentell an Versuchstieren solche Schädigungen hervorgerufen werden. Die grundlegenden Pathomechanismen dazu wurden in den letzten Jahren aufgeschlüsselt: Volutrauma bezeichnet die Überblähung der Alveolen, Atelektrauma das Auftreten von Scherkräften beim zyklischen Kollabieren und Öffnen von Alveolen, Biotrauma die Freisetzung von Entzündungsmediatoren (Zytokinen) aus der beatmeten Lunge. Dazu kommt noch die toxische Wirkung hoher inspiratorischer Sauerstoffkonzentrationen. Als Barotrauma wird mittlerweile nur noch der radiologische Nachweis extraalveolärer Luft definiert. Die Anwendung von PEEP und die Begrenzung des Tidalvolumens auf 6ml/kg Körpergewicht sind Bestandteil des Konzeptes der protektiven Beatmung bei Patienten mit schwerer Lungenschädigung. Sie führen dabei nachweisbar zu geringerer Sterblichkeit, verkürzter Beatmungsdauer und sind inzwischen in der Intensivmedizin etabliert.

In vielen Studien wurde gezeigt, dass es unter Beatmung mit hohen Atemzugvolumina bei Kleintieren (wie z.B. Ratten) bereits nach wenigen Stunden zu einem eiweißreichen Lungenödem, funktionellen Beeinträchtigungen (Abfall des paO_2 im Blut), zu pulmonaler und auch systemischer Entzündungsreaktion und unter Umständen zum Multiorganversagen und Tod kommt. Diese Untersuchungen wurden jedoch fast ausschließlich an jungen erwachsenen Tieren durchgeführt, während viele der künstlich beatmeten Patienten ein fortgeschrittenes Lebensalter aufweisen. Spezifische Veränderungen des Immunsystems und der Lunge im Alter wurden bereits beim Menschen aufgezeigt, auch die beatmungsinduzierte Lungenschädigung selbst beinhaltet und beeinflusst viele inflammatorische Kaskaden und Aspekte der Lungenfunktion. Mit dieser Studie sollte daher das Auftreten und die Ausprägung einer beatmungsinduzierten Lungenschädigung bei Tieren im fortgeschrittenen Lebensalter untersucht und mit beatmungsinduzierten Effekten bei typischen, jungen Tierpopulationen verglichen werden.

Wir beatmeten zwei Altersgruppen: erwachsene Jungtiere und gealterte Tiere nach spezieller Instrumentation über 4 Stunden in Narkose (FiO_2 0,4; PEEP 5cmH₂O; Atemfrequenz 40/min). Jede Altersgruppe wurde nochmals unterteilt in 3 Gruppen mit unterschiedlichen Tidalvolumen, berechnet in ml pro kg Körpergewicht: eine Gruppe mit niedrigem (8), eine mit erhöhtem (16) und eine mit stark erhöhtem (24ml/kg KG) Tidalvolumen. Die erhöhten (unphysiologischen) Atemzugvolumina wurden bewusst im Gegensatz zur klinischen Praxis gewählt, um im zeitlich begrenzten Versuchsmodell die charakteristischen Veränderungen hervorrufen zu können. Wir erhoben eine Vielzahl pulmonaler, funktioneller und extrapulmonaler Parameter, auch postmortal wurde die Lunge weiter aufgearbeitet.

Das wesentliche Ergebnis der Studie ist, dass Beatmung mit hohen Tidalvolumina bei gealterten Tieren, im Vergleich zu jungen Tieren, zu einer stärkeren pulmonalen und systemischen Entzündungsreaktion führt. Gealterte Tiere, vor allem bei Beatmung mit 24ml/kg KG, zeigten eine stärkere Beeinträchtigung der Oxygenierung und des Kreislaufs, ein stärker ausgeprägtes proteinreiches Lungenödem, größere Anzahlen neutrophiler Granulozyten im Blut, sowie höhere Konzentrationen von Interleukin 1 β und Interleukin 6 im Serum. Auch in der bronchoalveolären Lavage hatten gealterten Tieren unter dem Einfluss hoher Tidalvolumina (24ml/kg KG) deutlich höhere Konzentrationen von IL-6 während Makrophagen und neutrophile Granulozyten in vergleichsweise geringerer Anzahl in der Lavage zu finden waren. Die stärkere Entzündungsreaktion führte zu Schock und vermehrter Sterblichkeit gealterter Tiere in der Beatmungsphase.

Unsere Studie zeigt, dass bereits gewonnene Forschungsdaten zur beatmungs-induzierten Lungenschädigung an jungen erwachsenen Tieren im Grundsatz auch für gealterte Tiere gelten. Wenn man die gewonnenen Ergebnisse im Tierversuch auf den Menschen extrapoliert, besteht Grund zur Annahme, dass ältere Patienten anfälliger für eine beatmungsbedingte Lungenschädigung sind. Daher sollten insbesondere bei diesen Patienten die Empfehlungen zur protektiven Beatmung mit einer Begrenzung des Tidalvolumens konsequent umgesetzt werden.

2. Einleitung

2.1. Übersicht: Positive und negative Effekte der künstlichen Beatmung

Die künstliche Beatmung von Patienten ist ein wesentlicher Bestandteil moderner Intensivmedizin.

Wesentliche Indikationen für die Durchführung der künstlichen Beatmung sind zum einen schwere Beeinträchtigungen oder Versagenszustände der respiratorischen Funktion, mit der Gefahr einer Sauerstoffunterversorgung des Organismus oder aber eine lungenferne schwere körperliche Beeinträchtigung oder Schädigung, deren Behandlung unter anderem die kontrollierte Übernahme der Atemfunktion durch maschinelle Beatmung beinhaltet, wie z.B. schwere Störungen des Zentralnervensystems (Schädel-Hirntrauma, Hirnblutung, Intoxikationen), Polytrauma, neuromuskuläre Erkrankungen, schwere kardiovaskuläre Störungen (kardiogener Schock) oder schwere Infektionen mit Beeinträchtigung der Gesamthomöostase (schwere Sepsis, septischer Schock).

Obwohl unter den genannten Umständen künstliche Beatmung als lebensrettende Maßnahme, oder zumindest als wesentlicher Bestandteil eines rettenden Gesamtherapiekonzepts angesehen werden muss, sind doch auch schon seit langem erhebliche Nebenwirkungen und teilweise ernste Komplikationen dieser Therapie bekannt, dazu Übersicht 1:

Beispiele für Nebenwirkungen künstlicher Beatmung aus der klinischen Praxis:

- Abfall des Herzzeitvolumens, Senkung der kardialen Vorlast (v. a. bei Beatmung mit hohem positivem endexpiratorischem Druck und Hypovolämie)
- Verminderung von Leber- und Splanchnikusperfusion
- Zunahme des intrakraniellen Drucks durch Behinderung des venösen Rückstroms
- Abnahme der Urinausscheidung und Flüssigkeitsretention in Zusammenhang mit Einschränkung der Nierenfunktion
- Störung der mukoziliären Clearance mit Gefahr der Pneumonie

Als ein eigenständiger Komplex der Komplikationen kann zudem die sogenannte beatmungsassoziierte oder -induzierte Lungenschädigung, im angloamerikanischen

Sprachraum *Ventilator- induced lung injury* (VILI) oder *Ventilator- associated lung injury* (VALI) genannt, gesehen werden.

Das hier hervorgerufene Schädigungsmuster an der Lunge ähnelt, je nach Schweregrad, makroanatomisch und histopathologisch dem des akuten Lungenversagens, *Acute Respiratory Distress Syndrom* - ARDS (Dreyfuss et al. 1988). Bei dieser Ähnlichkeit ist es schwierig, negative pulmonale Effekte einer Beatmung von der zugrunde liegenden Lungenerkrankung abzugrenzen, da künstliche Beatmung selbst ein Risikofaktor darstellt bzw. ein bestehendes ARDS verschlimmern kann.

Das *Acute Respiratory Distress Syndrom* kann durch eine Vielzahl von Auslösern, wie z.B. schweres Trauma, Schock, Aspiration und schwere Infektionen/Sepsis hervorgerufen werden. Einen Überblick über die Definitionen gibt Übersicht 2:

Definitionen des ARDS

American- European-Consensus Conference (AECC) 1994 (Bernard et al. 1994)

- akuter Beginn
- bilaterale Infiltrate im Röntgenbild
- Ausschluss einer Linksherzinsuffizienz oder pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP) < 18mmHg
- O₂-refraktäre Hypoxämie (Horovitz-Oxygenierungsindex pO₂/FiO₂ Ratio < 200mmHg bzw. im Fall der *Acute Lung Injury* - ALI < 300mmHg

Berlin Definition 2012 (Ranieri et al.)

- akuter Beginn : auslösendes Ereignis innerhalb der letzten Woche
- bilaterale Infiltrate im Röntgenbild oder Computertomographie
- Ausschluss kardiales Lungenödem oder Überwässerung (Echokardiographie)
- Oxygenierungsstörung bei einem PEEP > 5cmH₂O
- mildes ARDS: pO₂/FiO₂ Ratio 200- 300mmHg
- moderates ARDS: pO₂/FiO₂ Ratio <200mmHg
- schweres ARDS: pO₂/FiO₂ Ratio <100mmHg

Aufgrund der schweren, lebensbedrohlichen Hypoxämie ist die künstliche Beatmung einer der wesentlichen Bestandteile der Therapie dieser Patienten.

Trotzdem ist die Letalität des akuten Lungenversagens auch heutzutage noch hoch, für Europa hat die ALIVE-Studie eine Sterblichkeit von 57,9% für das ARDS angegeben (Brun-Buisson et al. 2004).

In den letzten Jahren wurde nachgewiesen, dass die Art und Weise in der Patienten mit ARDS beatmet werden, die Letalität beeinflusst. Wichtige multizentrische, klinische Studien untersuchten die Effekte unterschiedlicher Beatmungseinstellungen bei Patienten mit ARDS. Unter anderem wurden in diesen Studien der Einfluss von PEEP (Brower et al. 2004) und der des Atemzugvolumens untersucht. Der Nachweis, dass die Anwendung von niedrigen Tidalvolumina (6ml/kg KG) im Vergleich zu sogenannten traditionellen Tidalvolumen (12ml/kg KG) mit einer geringeren Sterblichkeit verbunden ist (ARDS-network 2000), hat das Behandlungskonzept bei Patienten mit ARDS nachhaltig beeinflusst. Im Umkehrschluss ließe sich aus dem Ergebnis dieser Studie ableiten, dass eine eher aggressive Beatmungseinstellung (höheres Tidalvolumen) eine bereits bestehende Schädigung der Lunge des Patienten verstärkt und damit letztendlich die Letalität erhöht. Allerdings bietet die genannte klinische Studie keine sichere Erklärung für die Mechanismen, die der Beeinflussung der Sterblichkeit zu Grunde liegen.

In den Jahren zuvor wurden in einer Vielzahl experimenteller Studien wichtige Erkenntnisse darüber gewonnen, wie künstliche Beatmung mit der Lunge interagiert und wesentliche Pathomechanismen der beatmungsinduzierten, bzw. -assoziierten Lungenschädigung aufgeschlüsselt. Diese werden nachfolgend kurz dargestellt.

2.2.Beatmungsinduzierte Lungenschädigung: Terminologie und Mechanismen

Unabhängig vom zugrunde liegenden Mechanismus durch den künstliche Beatmung die Lunge schädigen kann, wurden auf einer Konsensuskonferenz die beiden folgenden Begriffe übergeordneten Begriffe definiert (*IntConsensusConference 1999*):

VILI – Ventilator- induced lung injury

VILI wird definiert als direkte Lungenschädigung, hervorgerufen durch mechanische Beatmung in Versuchstiermodellen. Die Beatmung stellt hier also den tatsächlichen Auslöser für die pulmonale Schädigung dar.

VALI – Ventilator- associated lung injury

VALI beschreibt eine Lungenschädigung, die im Zusammenhang mit künstlicher Beatmung auftritt. Im Gegensatz zu VILI ist hier aber die Kausalität der Beatmung für die Lungenschädigung nicht beweisbar, da noch andere Faktoren für eine Lungenschädigung (z.B. eine präexistente Erkrankung) in Frage kommen. Der Term VALI wird daher in der Regel für klinische Szenarien angewendet.

Nachdem lange Zeit alleinig das Barotrauma als Korrelat der beatmungsbedingten Lungenschädigung galt (hervorgerufen scheinbar ausschließlich als Folge eines zu hohen Beatmungsdrucks), setzt sich das aktuelle Verständnis von VILI bzw. VALI mittlerweile aus mehreren Komponenten zusammen. Momentan sind folgende Pathomechanismen konkret benannt, die zur beatmungsbedingten Lungenschädigung führen können (*Pinhu et al. 2003*):

- Volutrauma. Schädigung durch Überblähung der Alveolen
- Atelektrauma: Scherstress durch wiederholtes Öffnen (Recruitment) und Verlegung (Derecruitment) der Alveolen
- Barotrauma: radiologischer Nachweis extraalveolärer Luft
- Biotrauma: Freisetzung von Entzündungsmediatoren in der beatmeten Lunge
- Sauerstofftoxizität: Schädigungen, verursacht durch hohe inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO_2)

Volutrauma

Über den großen Einfluss des Tidalvolumens auf die Entstehung einer beatmungsassozierten Lungenschädigung ist man sich heute weitestgehend einig. Dreyfuss (*Dreyfuss et al. 1988*) konnte an beatmeten Ratten zeigen, dass sich bei hohem Atemzugvolumen bereits nach kurzer Zeit ein Lungenödem mit ultrastrukturellen Veränderungen im Sinne von Kapillarlecks und hyalinen Membranen bildet. Dagegen kam es zu keinem Lungenödem, wenn die Thoraxbeweglichkeit durch äußerlich an den Tieren angebrachtes thorakoabdominales Strapping begrenzt wurde und sich somit der angewendete Beatmungsdruck nicht in ein hohes Tidalvolumen übertragen konnte.

Hernandez (*Hernandez et al. 1989*) erhielt ähnliche Ergebnisse bei Kaninchen. Auch trotz hoher Atemwegsdrücke konnte er positive Effekte kleiner Tidalvolumina durch Begrenzung der Thoraxexkursion nachweisen.

Der zelluläre Schädigungsmechanismus der alveolären Überblähung könnte physikalisch unter anderem durch die erhöhte Einwirkung von Längskräften auf die pulmonalen Kapillaren erklärt werden (*Fu et al. 1992*).

Beim ARDS können nicht erkrankte, belüftete Bezirke und kollabierte, nicht belüftbare Bereiche gleichzeitig vorliegen. Das am Gasaustausch teilnehmende Lungengewebe ist auf bis zu 20-30% reduziert - sogenannte *Baby lung* (*Gattinoni et al. 1991*).

Daher ist davon auszugehen, dass es zu regionalen Überblähungen kommt, selbst wenn Tidalvolumina angewendet werden, die für gesunde Lungen unbedenklich sein dürften (*Slutsky 2005*). Patienten mit einem ARDS sind aufgrund dieser Tatsachen wahrscheinlich besonders empfänglich für das zusätzliche Auftreten einer beatmungsassoziierten Lungenschädigung. Die positiven Effekte einer Begrenzung des Tidalvolumens bei dieser Patientengruppe konnten in der bereits erwähnten Studie des ARDS Network (ARDS-network 2000) eindrucksvoll gezeigt werden und somit tierexperimentelle Erkenntnisse in die klinische Praxis übertragen werden.

Atelektrauma

Auch bei niedrigen Atemwegsdrücken und Beatmungsvolumina ist eine direkte Schädigung der Lunge möglich. Hierbei spielen Scherkräfte eine vordergründige Rolle.

Einerseits kommt es beim ARDS zu einer inhomogenen Entfaltung der Lunge durch das gleichzeitige Vorliegen atelektatischer und (über-) belüfteter Bezirke. Im Grenzbereich diese Areale entstehen beachtliche Kräfte (*Mead et al. 1970*) und das Auftreten von Pseudozysten in diesem Bereich wird so begünstigt (*Pinhu et al. 2003*).

Andererseits treten diese Scherkräfte auch beim wiederholten Öffnen und Schließen von kleinen, distalen Atemwegen auf. Dies zeigt sich vor allem bei der Beatmung ohne PEEP, bei der es offensichtlich besonders ausgeprägt zum repetitivem Alveolarkollaps in der Expiration (Derecruitment) und zur Wiedereröffnung während der Inspirationsphase (Recruitment) kommt.

Mit der Anwendung des sogenannten Open-Lung- Konzeptes (*Lachmann 1992*) sollte dem Atelektrauma beim ARDS vorgebeugt, rekrutierbare Lungenanteile

geöffnet und dann offen gehalten werden. Dazu wurde empfohlen, den Beatmungsdruck kurzfristig zu erhöhen und dann die so geöffneten Areale mit PEEP offen zu halten. Heute jedoch differieren die Meinungen über den Nutzen dieser Recruitment-Manöver.

Barotrauma

Nach der Konsensuskonferenz (IntConsensusConference 1999) wird unter dem Begriff Barotrauma das Vorhandensein extraalveolärer Luft verstanden. Dies schließt klinisch den Pneumothorax, das Pneumoperitoneum, sowie das Mediastinal- und das Hautemphysem ein.

Der Begriff des Barotrauma hat sich im Laufe der Zeit gewandelt. Anfangs wurden darunter Effekte subsumiert welche scheinbar durch die Beatmung mit erhöhten Spitzendrücken entstehen. Im Widerspruch dazu steht schon 1969 die Beobachtung von Bouhuys, welcher bei Musikern (Trompeter) Atemwegsdrücke von bis zu 150 cmH₂O gemessen hatte, ohne dass dies bekanntermaßen negative Auswirkungen auf die Lunge hat (*Bouhuys 1969*). Auch beim Husten und Niesen werden Drücke bis 200cmH₂O erreicht. Weg (*Weg et al. 1998*) und die Untersuchungen des ARDS Network (ARDS-network 2000) konnten bei Patienten mit ARDS keinen Zusammenhang zwischen der Höhe des Beatmungsdrucks und der Manifestation eines Barotraumas bzw. Pneumothorax feststellen. Man geht mittlerweile davon aus, dass der Atemwegsspitzenruck allein kein entscheidender Faktor für die Entstehung des Barotraumas ist.

Im Gegensatz dazu korreliert der transpulmonale Druck mit dem Blähungszustand der Alveolen und damit mit ihrem Volumen. Er wird errechnet aus der Differenz von Atemwegsdruck und Pleuradruck, $P_{TP} = P_{AW} - P_{PL}$. Der pleurale Druck wird von vielen Faktoren seitens des Patienten beeinflusst: z.B. Adipositas, eventuell vorhandene Pleuraergüsse.

Ein relativ neues Modell von *stress and strain* soll die Vorgänge mechanisch-pathophysiologisch besser erfassen (Chiumello et al. 2008). *Stress* beschreibt die einwirkende Kraft pro Fläche- annäherungsweise also gleich dem transpulmonalen Druck. Während *strain* die Veränderung des Lungenvolumens relativ zur Ausgangslage ist, also Tidalvolumen im Verhältnis zur funktionellen Residualkapazität.

Konkrete Empfehlungen für die Praxis gibt es bisher aber nur zur Begrenzung des Plateaudruckes. Dieser lässt sich zwar technisch einfach messen, ist aber eigentlich

nur ein Surrogatparameter. Ein Wert von 30cmH₂O sollte nach Ansicht vieler Autoren nicht überschritten werden, um strukturelle Lungenschäden möglichst zu vermeiden.

Es ist also eher die Blähung der Lunge für die Entstehung eines Barotraumas entscheidend, statt hohe Atemwegsdrücke an sich (*Slutsky 2005*). Im erweiterten Sinne läge damit jedem Barotrauma der Mechanismus des Volutrauma zugrunde. Ob ein direkter Zusammenhang zwischen dem Barotrauma und den mikrostrukturellen Schädigungen bei der VILI bzw. VALI besteht, bleibt unklar.

Nachgewiesen wurde, dass die Inzidenz des Barotraumas wesentlich vom Vorliegen und der Art einer Lungenerkrankung abhängt. So haben Patienten mit ARDS oder einer chronischen Fibrose der Lunge, im Vergleich zu Lungengesunden, ein hohes Risiko für die Entwicklung dieser Komplikation. (*Gammon et al. 1995*).

Biotrauma

Anfang der 1990er Jahre entstand die Hypothese, dass künstliche Beatmung, durch Überdehnung oder Scherstress, zu einer Freisetzung von Entzündungsmediatoren in der Lunge führen könnte.

Mit einer der ersten Studien auf diesem Gebiet, konnten Tremblay et al. in einem Ex-vivo-Modell zeigen, dass verschiedene Beatmungsstrategien zu unterschiedlichen Konzentrationen von inflammatorischen Zytokinen in der bronchoalveolären Lavage führen (Tremblay et al. 1997). So fanden sich sehr hohe Konzentrationen von TNF-alpha, IL-1 β , IL-6 und MIP-2 in den Lungen, die mit hohem Tidalvolumen und ohne PEEP beatmet wurden.

Mechanische Beatmung kann also die Produktion von Zytokinen in der Lunge hochregulieren und zu einer pulmonalen Entzündungsreaktion (Biotrauma) führen, welche gesunde Lungen schädigt oder eine bereits vorher bestehende Schädigung (z.B. ARDS) verstärkt.

Dabei ist die hervorgerufene Entzündungsreaktion nicht notwendigerweise auf die Lunge beschränkt. Durch den Übertritt von Mediatoren in den systemischen Kreislauf (*overspill*) kommt es zu einer systemischen Inflammationsreaktion (SIRS). Dies wiederum kann zu Dysfunktionen weiterer Organe z.B. Niere, Leber, Darm und Kreislauf führen. Im schlimmsten Fall tritt ein Multiorganversagen ein.

Dies deckt sich mit den Beobachtungen, dass bei Patienten mit ARDS vorrangig das Multiorganversagen als Todesursache anzusehen ist, und nicht primär das respiratorische Versagen (*Montgomery et al. 1985*). Mehrere Autoren weisen auf einen möglichen Zusammenhang zwischen erhöhten proinflammatorischen Zytokinenspiegeln und der Mortalität hin, so z. B. Meduri (*Meduri et al. 1995*).

Auch in der ARDS Network Studie hatten die Patienten in der Gruppe mit niedrigem (6ml/kg KG) Tidalvolumen niedrigere systemische Konzentrationen von Zytokinen wie Interleukin 6 und eine signifikant niedrigere Letalität.

Dagegen führt eine technisch realisierbare Verbesserung der Oxygenierung per se, z.B. durch extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) nicht zwangsläufig auch zu einer Verringerung der Mortalität. Die ersten randomisierten Studien zur Anwendung der ECMO konnten keinen Überlebensvorteil für Patienten nachweisen, die mit dieser Technik therapiert wurden (Zapol et al. 1979).

Zytokine sind bei der Immunantwort gebildete, interzelluläre Signalmoleküle und offensichtlich wichtige Mediatoren des Biotraumas. Sie werden im bronchialen und alveolären Epithel, sowie in Alveolarmakrophagen und Granulozyten synthetisiert und wirken entscheidend auf das Zusammenspiel der Entzündungszellen und die Migration bzw. Aktivierung von Leukozyten ein.

Die folgenden hypothetischen Mechanismen werden für die Freisetzung inflammatorischer Mediatoren im Zusammenhang mit künstlicher Beatmung in Betracht gezogen (*Halbertsma et al. 2005*)

- **Mechanotransduktion:** Veränderungen der zytoskeletalen Struktur ohne ultrastrukturelle Schädigung

Zahlreiche Experimente zeigen, dass Alveolarzellen pro- und antiinflammatorische Mediatoren produzieren, wenn sie in vitro gedehnt werden (*Vlahakis et al. 1999*). Transmembranrezeptoren wie Integrine, dehnungsabhängige Ionenkanäle und das Zytoskelett an sich wurden dabei als Strukturen identifiziert, die in diesem Zusammenhang intrazelluläre Prozesse auslösen (*Pugin 2003*).

- **Dekompartialisierung** Zerstörung der Zellintegrität, z.B. durch Zellzerreißung oder Nekrose

Direkte Traumatisierung der Zellmembran von Alveolarzellen führt ebenfalls zur Freisetzung intrazellulärer Zytokine ins Interstitium, den Alveolarraum und in den systemischen Kreislauf.

Wichtige inflammatorische Mediatoren, die häufig in experimentellen und klinischen Studien zur Erfassung der beatmungsassoziierten Lungenschädigung herangezogen werden sind folgende:

- **TNF alpha** und **Interleukin-1 β** stehen als sogenannte *early response cytokines* am Anfang der inflammatorischen Kaskade, indem sie Makrophagen und Fibroblasten aktivieren. Neue Zytokine werden durch diese aktivierten Zellen produziert, Leukozyten migrieren vom Blutstrom zum Entzündungsherd.
- **Interleukin-6** stimuliert die Bildung von Akut-Phase Proteinen und induziert unter anderem die B- und T- Zell Reifung.
- **Interleukin-8** ist der Hauptvertreter der CXC- Chemokine, einer Untergruppe der Zytokine. Die Funktion dieser Mediatoren besteht hauptsächlich in der Aktivierung neutrophiler Granulozyten.
- **Macrophage Inflammatory Protein-2 (MIP-2)** wirkt als CC- Chemokin vorrangig auf Monozyten, Lymphozyten, sowie auf basophile und eosinophile Granulozyten.
- **Interleukin-10** ist ein antiinflammatorisches Zytokin. Es inhibiert die Produktion von TNF alpha, IL-1 β und IL- 6 durch Makrophagen. Im Tiermodell Immunkomplex-induzierter Lungenschädigung konnte eine protektive Wirkung von IL 10 gefunden werden. (Mulligan et al. 1997)

Neben den genannten inflammatorischen Mediatoren spielen bei der beatmungsassoziierten Lungenschädigung zelluläre Mechanismen, insbesondere die Akkumulation neutrophiler Granulozyten (sowohl im Interstitium als auch im Alveolarraum der Lunge) eine wichtige Rolle. Infolge der Aktivierung dieser Zellen kommt es zum Fortschreiten der Entzündungskaskade und über sezernierte Proteasen und reaktive Sauerstoffmetabolite zur Schädigung des Kapillarendothels und auch des Alveolarepithels. In der Folge entsteht unter anderem ein Permeabilitätsödem (Matthay 1994) dessen Erfassung in vielen Studien als Marker für das Vorliegen einer beatmungsinduzierten Lungenschädigung herangezogen wird.

2.3. Effekte des Alters auf die beatmungsassoziierte Lungenschädigung

Experimentelle Untersuchungen zum Thema der beatmungsassoziierten Lungenschädigung wurden häufig an typischen Versuchstierarten wie z.B. Ratten durchgeführt und haben eine Vielzahl grundlegender Aspekte dieses Syndroms geklärt. In der Regel wurden Tiere verwendet, die nach Aufzucht gerade das Erwachsenenalter erreicht haben, also im Alter von 8-16 Wochen.

Ratten erreichen ihre sexuelle Reife ca. nach 6 Wochen, die soziale Reife im 5.-6. Lebensmonat. Die Menopause bei weiblichen Tieren tritt etwa im Alter von 15-18 Monaten auf. Die durchschnittliche Lebenserwartung der unter Laborbedingungen für Versuchszwecke gezüchteten Ratten liegt bei ungefähr drei Jahren während wild lebende Tiere meist nicht länger als ein Jahr leben (Andreollo et al.).

Im Gegensatz zum Alter der Versuchstiere, befinden sich die Patienten die auf einer Intensivstation künstlich beatmet werden, häufig im fortgeschrittenen Lebensalter. Hohes Lebensalter kann theoretisch die Wechselwirkung zwischen Lungenfunktion und künstlicher Beatmung in zweierlei Hinsicht beeinflussen:

Zum einen nimmt die Inzidenz einer akuten Lungenschädigung (ARDS) mit dem Alter der Patienten zu, besonders im Rahmen akuter Krankheitsgeschehen wie z.B. der Sepsis (El Solh und Ramadan 2006).

Zum anderen können physiologische altersbedingte Veränderungen, sowohl intrapulmonal als auch extrapulmonal, die Reaktionen eines gealterten Organismus auf künstliche Beatmung beeinflussen. Bekannt sind z.B. altersbedingte Veränderungen der Zusammensetzung der Lungenmatrix, des pulmonalen Gasaustauschs und der Lungencompliance. So kommt es im Alter zu einer Abnahme elastischer Fasern zugunsten von Kollagen, die Lungencompliance nimmt zu. Durch die relative Vergrößerung der Alveolargänge, großen Bronchien und auch der Trachea bildet sich ein seniles Emphysem: die Vitalkapazität der Lunge nimmt ab, das Residualvolumen steigt (El Solh und Ramadan 2006).

Bezüglich extrapulmonaler Effekte sind unter anderem Veränderungen von Immunsystem und Immunreaktion im Alter zu nennen. So sind B- und T-Zellen sowohl in ihrer Anzahl als auch in der Funktion reduziert, die Anzahl neutrophiler Granulozyten und NK-Zellen im Blut dagegen erhöht. Das Gleichgewicht zwischen TH 1- und TH 2- Zellen und ihren Leitzytokinen ist verschoben. (Ibs und Rink 2001). Neben diesen primären Veränderungen des Immunsystems kommen auch sekundäre Effekte der Seneszenz wie verminderte Perfusion und Stoffwechselveränderungen hinzu.

Ein grundsätzlicher Einfluss des Lebensalters auf die Ausprägung schädigender Beatmungseffekte wurde bisher in experimentellen Studien an jungen und neugeborenen Versuchstieren gezeigt. Allerdings mit teilweise widersprüchlichen Ergebnissen: es wird von gesteigerter (Chan et al. 2006), wie auch von verminderter (Kornecki et al. 2005) Empfindlichkeit berichtet.

Aus den oben genannten Aspekten ergibt sich die Frage, inwieweit die vielfach von gerade erwachsenen Tierpopulationen generierten Daten bezüglich VILI und VALI für den (hohen) Anteil an künstlich beatmeten Patienten im fortgeschrittenen Lebensalter repräsentativ sind.

Experimentelle Daten über den Einfluss fortgeschrittenen Lebensalters auf die beatmungsinduzierte Lungenschädigung sind rar. Zum Zeitpunkt unserer Untersuchung ist uns lediglich eine kleine Studie an Ratten bekannt, die sich mit diesem Thema beschäftigt (Nin et al. 2008). In dieser Studie zeigte sich im Vergleich zu jungen Tieren eine verstärkte Lungenschädigung bei gealterten Tieren, wenn über eine Stunde eine sehr aggressive Beatmungsstrategie angewendet wurde.

3. Ziele und Fragestellung der Untersuchung

Abgeleitet aus den oben genannten Aspekten fokussiert die vorliegende tierexperimentelle Untersuchung auf den Einfluss des hohen Lebensalters auf die Ausprägung der beatmungsinduzierten Lungenschädigung.

Ziel der Untersuchung war die Gewinnung einer breiten Palette an pulmonalen und extrapulmonalen Markern während und nach Anwendung definierter Beatmungsstrategien bei Ratten zweier unterschiedlicher Altersgruppen. Hierbei sollten Altersgruppen verglichen werden, die zum einen den häufig untersuchten gerade erwachsenen Tieren und zum anderen Tieren im fortgeschrittenen Lebensalter entsprechen.

Bei der Definition der Beatmungsstrategie sollte der Schwerpunkt auf der Anwendung unterschiedlicher hoher Tidalvolumina in beiden Altersgruppen liegen.

Mit der Untersuchung sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- Treten bei gealterten Tieren qualitativ vergleichbare Effekte schädigender Beatmung auf wie bei jungen Tieren?
- Ist die beatmungsinduzierte Schädigung bei gealterten Tieren stärker ausgeprägt als bei jungen Tieren?
- Ist die beatmungsinduzierte Schädigung abhängig von der Höhe des angewendeten Tidalvolumens (Dosis-Wirkungs-Beziehung)?

4. Material und Methoden

4.1. Versuchstiere

Die Zulassung der Versuche erfolgte durch das Thüringer Landesverwaltungsamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz, Bad Langensalza, Registrier- Nr. 02-016/06.

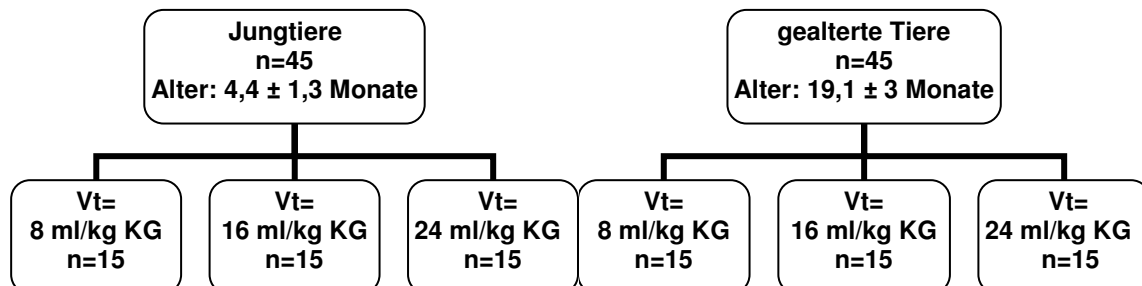
Die Studie wurde an weißen, männlichen Wistar-Ratten zweier Altersgruppen durchgeführt. Es wurden junge, gerade erwachsene Tiere im durchschnittlichen Alter von 4,4 Monaten ($\pm 1,3$ Monate) und gealterte Tiere mit einem Durchschnittsalter von 19,1 Monaten ($\pm 3,0$ Monate), untersucht.

Die Tiere wurden unter künstlichem Tag-Nacht-Rhythmus unter Reinraumbedingungen im Forschungszentrum Lobeda der Friedrich-Schiller-Universität Jena gehalten. Nahrung (kommerzielles Versuchstierfutter) und Wasser standen für die Tiere permanent zur Verfügung.

Das Gewicht der Ratten lag bei $378 \pm 16\text{g}$ in der Gruppe „Jungtiere“ und $583 \pm 65\text{g}$ in der Gruppe „gealterte Tiere“.

Die Versuche selbst fanden in einem Labortrakt des Instituts für Versuchstierkunde der Friedrich-Schiller-Universität Jena statt.

4.2. Studiengruppen



Übersicht 1: Versuchsgruppen

In zwei Altersgruppen wurden randomisiert je 3 Versuchsgruppen gebildet, die Tiere nach der Zuordnung anästhesiert, instrumentiert und dann für eine Dauer von 4 Stunden mit unterschiedlichem Atemzugvolumen beatmet (Übersicht 1). In jeder Alterskategorie wurde je eine Versuchsgruppe mit niedrigem (8 ml/kg), hohem (16ml/kg) und sehr hohem (24ml/kg) Atemzugvolumen beatmet. Das angewendete absolute Atemzugvolumen wurde jeweils in ml nach der Zuordnung in die einzelnen Gruppen berechnet. Das angewendete Tidalvolumen pro Tier war damit ca. 3 ; 6 bzw. 9 ml bei den Jungtieren und ca. 4 ; 9 bzw. 13 ml bei den gealterten Tieren. Bei Tieren mit einem Körpergewicht von mehr als 550g wurde für die Berechnung des Tidalvolumens nur maximal 550g veranschlagt. Dies erfolgte aufgrund von Voruntersuchungen an gealterten Tieren, die zeigten, dass ab einem Gewicht von ca. 550g keine weitere Zunahme des Lungengewichtes auftritt.

4.3. Versuchsablauf

Nach der Narkoseeinleitung, Anlage von Gefäßkathetern und Tracheotomie folgte die 4-stündige Beatmung mit dem jeweils zugeordneten Tidalvolumen. Während der Beatmungsphase wurden fortlaufend hämodynamische und respiratorische Parameter überwacht und in definierten Abständen protokolliert. Zu definierten Zeitpunkten erfolgten zudem arterielle Blutentnahmen zur Durchführung von Blutgasanalysen, Blutbildern und der Bestimmung inflammatorischer Marker. Übersicht 2:

Versuchszeitpunkt in Minuten	Messung von Vitalwerten	Blutentnahmen	durchgeführte Maßnahmen
-15	Gewicht		Narkose, Präparation, Katheteranlage
0	HF, BD, ZVD, Beatmungsdrücke, HZV	BGA, Leukozyten und PMNL im Blut, Zytokine i.S.	Tracheotomie, Beatmungsbeginn
60	HF, BD, ZVD, Beatmungsdrücke	BGA	
120	HF, BD, ZVD, Beatmungsdrücke, HZV	BGA, Leukozyten und PMNL im Blut, Zytokine i.S.	
180	HF, BD, ZVD, Beatmungsdrücke	BGA	
240	HF, BD, ZVD, Beatmungsdrücke, HZV	BGA, Leukozyten und PMNL im Blut, Zytokine i.S.	Beatmungsende, Entbluten, Messung der statistischen Compliance, Präparation, Lavage, Nassgewicht der Lunge

Am Ende der Beatmungsphase wurden die Tiere in tiefer Narkose durch Entbluten getötet. Es folgte die Entnahme der Lungen sowie die Probengewinnung und Messung der Compliance. Eine detaillierte Beschreibung der Vorgehensweise folgt im Abschnitt **4.5.**

Von Tieren, die weniger als 3 Stunden der Beatmungsphase überlebten, wurden keine postmortalen Daten erhoben. Damit sollte ein einheitlicher Zeitpunkt in Bezug auf die Inflamationsreaktion und die damit verbundene Bestimmung von Zytokinen und Zellzahlen aus der Lungenlavage gewährt werden.

4.4. Versuchsdurchführung

Narkoseeinleitung

Zu Beginn des Versuches wurden die Tiere gewogen und mittels einer intraperitonealen Injektion von 50mg Thiopental (Trapanal® ,Altana Pharma, Konstanz) anästhesiert.

Temperaturmanagement

Da durch eine Narkose die Temperaturregulation der Ratten beeinträchtigt wird, erfolgte ab dem Beginn der Anästhesie eine Wärmung der Tiere bei gleichzeitiger Überwachung der Körperkerntemperatur. Dies geschah über ein Steuergerät („Temperatur-Regler“, Fa. HSE, March) mit rektaler Temperatursonde und Infrarot-Wärmelampe. Der Sollwert wurde bei ca. 38°C eingestellt.

Katheterisierung der Halsgefäße

Zur Anlage eines arteriellen und zentralvenösen Katheters wurde bei den Ratten die vordere Halsregion rasiert, die Haut median ca. 2 cm längs inzidiert und das subkutane Fettgewebe präpariert. Unter einem Operationsmikroskop (OPMI 1 FC, Carl-Zeiss GmbH, Oberkochen) erfolgte die Freilegung der rechten Vena jugularis auf ca. 1cm Länge, Ligatur mittels Nahtgarn kranialwärts, Querinzision des Gefäßes und das Einführen des Katheters ca. 1 cm tief. Gleichzeitig fixierten wir den Katheter kaudalwärts durch eine Ligatur im Gefäß. Zur zusätzlichen Lokalanästhesie und zum

Feuchthalten des Präparationsgebietes kam Lidocainhydrochlorid 1% (Xylocitin®, mibe, Brehna) zum Einsatz.

Die gleiche Vorgehensweise verwendeten wir auch bei der Arteria carotis, wobei wir auf die Unversehrtheit des Nervus vagus achteten. Als Kathetermaterial wurde ein 1mm starker PE-Schlauch (Fa. Primed Medizintechnik, Halberstadt) verwendet, welcher mittels am Ende eingeführter Injektionskanülen (22G, Fa. Braun, Melsungen) einen Luer-Anschluss erhielt. Der arterielle sowie der venöse Schenkel wurden jetzt über Dreiwegehähne mit den Druckaufnehmern des Monitorsystems zur Blutdruck- und ZVD-Messung verbunden.

Zur Messung des HZV erhielten die Tiere einen zusätzlichen intravasalen Thermodilutionskatheter, der über die linke A. carotis platziert wurde. Dieser ca. 1mm starke Katheter (Fa. Columbus Instruments, Ohio), wurde bei der Gruppe „Jungtiere“ 2,5 bis 3cm, bei der Gruppe „gealterte Tiere“ ca. 3,5 bis 4cm tief ins Gefäß eingeführt und dort mit zwei Ligaturen fixiert. Die Spitze des Thermodilutionskatheters lag damit in etwa am Übergang der rechten A. carotis in den Aortenbogen.

Während der Präparationszeit wurde den Tieren über eine Maske Sauerstoff mit 4l/min zugeführt, um eventueller Hypoxie in Folge von Narkose und Manipulation vorzubeugen.

Tracheotomie, Anschluss an den Respirator

Über den bereits bei der Katheterisierung geschaffenen Zugang wurde die ventrale Halsmuskulatur gespalten, die Trachea freipräpariert und mittels Nahtgarn angeschlungen. Die Luftröhre wurde unterhalb des Kehlkopfes horizontal mit einer Schere inzidiert. Nach dem Einsetzen einer Stahlkanüle wurde diese mit dem vorgelegten Faden sicher in der Trachea fixiert und das Entweichen von Luft neben der Kanüle unterbunden. Das Kanülenende kam etwa 0,5 cm vor der Trachealbifurkation zu liegen. Bei der Stahlkanüle handelte es sich um eine Aspirationskanüle 2,0x30mm (Fa. Braun, Melsungen), deren vorderes Ende stumpf abgeschliffen war. Über ein Schlauchsystem von ca. 70cm Länge erfolgte unmittelbar nach dem Eingriff der Anschluss an den Respirator.

Beatmungsgerät

Die Tiere wurden mit einem Kleintierbeatmungsgerät (Animal-Respirator CIV 101, Columbus Instruments, Ohio, USA) beatmet. Die Atemgase wurden über Wandarmaturen aus der zentralen Gasversorgung des Instituts entnommen. Die Einstellung der Einzelgasflows erfolgte über ein auf die Einstellung niedriger Durchflussmengen ausgelegtes Flowmeter (Typ Aalborg). Die Messung der inspiratorischen O₂-Konzentration erfolgte über ein Gerät vom Typ Oxydig (Typ 8304300, Fa. Dräger, Lübeck). Die Gaszufuhr- und Ableitung am Tier geschah über ein Y-Stück, in das ein Messschlauch integriert war. Somit konnten über einen weiteren Transducer, die Atemwegsdrücke (Spitzendruck, Mitteldruck, endexpiratorischer Druck) kontinuierlich am Monitor sichtbar gemacht werden. Der positive endexpiratorische Druck (PEEP) wurde über die Eintauchtiefe des expiratorischen Schenkel des Beatmungssystems in ein wassergefülltes, skaliertes Gefäß eingestellt.

Beatmungsparameter

Die Beatmung erfolgte volumenkontrolliert mit einer inspiratorischen Sauerstofffraktion (FiO₂) von 0,4 und einem PEEP von 5 mbar. Die Atemfrequenz war bei allen Gruppen auf 40/min eingestellt, das Verhältnis von Inspiration zu Expiration (I:E) auf 1:1.

Je nach Gruppenzuordnung wurde ein Tidalvolumen von entweder 8, 16 oder 24 ml/kg KG eingestellt.

Bei den Tieren, die mit einem Tidalvolumen von 16 oder 24 ml/kg KG beatmet wurden, erfolgte zusätzlich die Zumischung von CO₂ in das inspiratorische Atemgas, um trotz der Hyperventilation eine arterielle Normokapnie aufrecht zu erhalten.

Muskelrelaxation

Zu Beginn der Beatmung wurden die Tiere vollständig muskelrelaxiert. Zum Einsatz kam Pancuroniumbromid (Pancuronium duplex®, DeltaSelect, Dreieich) in intravenöser Form und einer Dosis von 0,5 mg.

Flüssigkeitssubstitution und Fortführung der Narkose

Über die gesamte Versuchsdauer erhielten die Tiere eine Infusion mit Deltajonin® (Vollelektrolytlösung mit 140mmol Natrium und 4mmol Kalium pro Liter, DeltaSelect, Pfullingen) in einer Rate von 10ml pro Stunde mittels Spritzenpumpe (Perfusor® fm, Fa. Braun, Melsungen).

Die Narkose selbst wurde mit einer kontinuierlichen Infusion von Ketamin (z. B. Ketamin Inresa, Freiburg) mit 50mg/kg/h und Midazolam (z.B. Dormicum®, Roche-Pharma, Grenzach-Whylen) mit 0,5mg/kg/h über eine weitere Spritzenpumpe aufrechterhalten.

Antibiose

Nach Beginn der Narkose, aber noch vor der Präparation erhielten die Tiere Ceftriaxon (Rocephin®, Roche, Grenzach-Whylen) subkutan in einer Dosis von 12,5mg. Diese antibiotische Abschirmung wurde aufgrund der potentiellen mikrobiellen Kontamination durch die chirurgische Präparation vorgenommen. Möglicherweise hätte es sonst zu einer Überlagerung von Inflammationseffekten mit der eigentlichen beatmungsinduzierten Reaktion kommen können.

Töten der Tiere, Präparation und Entnahme der Lungen

Am Ende der Beatmungsphase wurden die Tiere in tiefer Narkose entblutet, um die Lungen entnehmen zu können. Dazu erfolgte ein Fellschnitt mittels Schere vom Unterbauch bis in Höhe der Tracheotomie, anschließend ein Y-förmiger Schnitt durch die Bauchmuskulatur und das Peritoneum. Nach seitlicher Mobilisation des Darmes wurde die Vena cava inferior mit einer herkömmlichen Kanüle mit angeschlossener Serum-Monovette® (Sarstedt, Nümbrecht) kanüliert und die Tiere durch Entnahme von ca. 10ml Blut getötet. Dann erfolgte eine mediane Sternotomie, Absetzen der Trachea und stumpfe Abpräparation des Mediastinums entlang der Wirbelsäule. Bei der dann folgenden Entnahme des Herz-Lungenpaketes wurde darauf geachtet das Lungenparenchym nicht zu verletzen. Herz und anhängendes Bindegewebe wurden sauber abpräpariert und die Lunge weiter aufgearbeitet.

4.5. Messmethoden und Probengewinnung

Messung der hämodynamischen und respiratorischen Parameter

Für diese Erhebungen verwendeten wir ein intensivmedizinisches Monitorsystem (M1166A, Model 66S, Hewlett Packard, Böblingen), welches die über Transducer abgeleiteten Druckwerte am Bildschirm darstellte. Damit wurden arterieller Blutdruck, ZVD und Atemwegsdrücke kontinuierlich gemessen.

Die Bestimmung der Herzfrequenz realisierten wir über die Auszählung der arteriellen Druckspitzen pro definierter Zeiteinheit. Die Kerntemperatur wurde über den Temperatur-Regler angezeigt und ebenfalls im Protokoll erfasst.

Blutgasanalyse

Die arteriellen Blutgase wurden in einem Analysator (ABL 520, Radiometer Copenhagen, Dänemark) gemessen. Das Blut wurde mit heparinisierten 1ml Spritzen entnommen und dann in den Analysator gegeben. Protokolliert und ausgewertet wurden der Sauerstoffpartialdruck (paO_2), der Kohlendioxidpartialdruck (paCO_2), die arterielle Sauerstoffsättigung (SaO_2) und der pH-Wert im Blut.

Messung des Herzzeitvolumens

Das Herzzeitvolumen, als ein entscheidender Ausdruck der Kreislauffunktion, wurde mittels transpulmonaler Thermodilution bestimmt. Dazu wurde den Ratten, zu den Messzeitpunkten jeweils dreimal, eine definierte Menge eisgekühlte, isotonische Kochsalzlösung zügig über den zentralen Venenkatheter injiziert. Aus dem Temperaturabfall am arteriell liegenden Thermodilutionskatheter berechnete ein Messgerät (Cardiotherm 400R, Columbus Instruments, Ohio) das Herzzeitvolumen. Aus den Ergebnissen der je 3 Messungen wurde der Mittelwert gebildet und dieser protokolliert.

Messung der statischen Lungencompliance

Um Veränderungen der Lungendehnbarkeit aufzuzeigen, wie sie bei Lungenschädigung und Lungenödem entstehen können, wurde die statische Compliance gemessen.

Nach dem Entbluten wurde die Lunge nochmals gebläht (bei 25cm H₂O für 5 Sekunden) und dann die Compliance der Lunge bestimmt. Dazu schlossen wir eine luftgefüllte 20ml Spritze an den Dreiwegehahn des Beatmungsschlauches an, blähten die Lunge in 1ml Schritten bis auf ein Volumen von 15ml und entleerten die Lunge dann wieder in 1ml Schritten. Die korrespondierenden Druckwerte, gemessen über einen Druckaufnehmer, wurden für den Verlauf des Blähens und Entblähens getrennt protokolliert.

.

Bestimmung der Leukozyten im Blut

Das entnommene Vollblut verdünnten wir im Verhältnis 1:20 mit dreiprozentiger Essigsäure (in einer Pipette) und gaben es in eine Neubauer-Zählkammer (Fa. Feinwerkoptik, Bad Bernburg) zur mikroskopischen Auszählung der Leukozyten.

Der Anteil neutrophiler Granulozyten wurde nach einer May-Grünwald- Giemsa-Färbung durch Auszählung von jeweils 100 Leukozyten und anschließende Errechnung der Absolutwerte bestimmt.

Den Rest des Blutes verwendeten wir zur Gewinnung von Plasma. Nach 10-minütiger Zentrifugation bei 4500 rpm wurde der Überstand abpipettiert und bei -84°C konserviert.

Messung der Zytokinkonzentration im Serum und in der BAL

Die Bestimmung der Zytokinkonzentrationen im Serum und Lungenlavageflüssigkeit erfolgte im Steinbeis-Transferzentrum für In-vitro Pharmakologie und Toxikologie der Universität Konstanz.

Mit für die Tierspezies Ratte geeigneten Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assays (ELISA) wurden dort Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6 (IL- 6) und Macrophage Inflammatory Protein-2 (MIP-2) gemessen. Diese kommerziell erhältlichen Analysesets waren: KRC 0011 für IL-1 β , KRC 0062 für IL-6 und KRC1022 für MIP2, alle von der Firma BioSource, Solingen.

Die Ausführung der Tests erfolgte nach den jeweiligen Anweisungen des Herstellers

Die Detektionsgrenzen lagen für IL-1 β im Bereich von 3 pg/ml, für IL- 6 bei 8 pg/ml und für MIP- 2 bei 1pg/ml.

Durch die getrennte Bestimmung der Zytokine im Serum und in der BAL sollte eine pulmonale Immunantwort von systemischen Auswirkungen der Beatmung abgegrenzt werden.

Bronchoalveoläre Lavage

An der entnommenen Lunge wurde der rechte Hauptbronchus mittels einer Klemme verschlossen. Anschließend erfolgte die Lavage der linken Lunge (bei der Ratte bestehend aus nur einem Lappen) über eine in die Trachea eingeführte Knopfkanüle. Gespült wurde in vier Schritten mit jeweils 2,5ml gepufferter Elektrolytlösung (PBS = phosphate buffered saline). Nach jeder Applikation, bis auf die letzte, aspirierten wir nur 1ml, so dass bei der letzten Spülung von einer kompletten Erfassung, auch vorher atelektatischer Lungenbezirke auszugehen war. Anschließend erfolgte die Zentrifugation der rückgewonnenen Flüssigkeit bei 4 °C, 3000 rpm über 10 Minuten (Kühlzentrifuge „Labofuge 400R“, Fa. Heraeus, Hanau).

Aus dem Überstand gewannen wir die Proben für die Zytokinbestimmung und die Proteinquantifizierung. Das zentrifugierte Zellpellet wurde mit 100 μ l PBS resuspendiert und im Verhältnis von 1:20 mit dreiprozentiger Essigsäure verdünnt. Die Auszählung der Granulozyten, Lymphozyten und Makrophagen fand bei 400-facher Vergrößerung (Carl Zeiss Mikroskop „Standard“) in einer Neubauer Zählkammer statt. Unter Korrektur um die Menge der aspirierten Lavageflüssigkeit (ca. 7-9ml der applizierten 10ml) wurden die absoluten Zellzahlen pro ml BALF errechnet.

Messung der Proteinkonzentration in der Lavage

Die Messungen der Proteinkonzentration in der bronchoalveolären Lavage wurden von einem externen Labor (Labor Löbel Retzlaff, Jena) vorgenommen. Eine erhöhte Proteinkonzentration in der Lavage ist ein Hinweis auf eiweißreiche Ödemflüssigkeit im Rahmen eines alveolären Kapillarlecks. Es wurde der „Total Protein Urine/CSF“ Test angewandt. Dabei handelt es sich um einen in vitro Test, der eigentlich zur quantitativen Bestimmung des Gesamteiweiß in Urin oder Liquor genutzt wird. Das Testprinzip beruht auf der Verwendung eines Pyrogallolrot-Molybdat-Farbkomplexes,

dessen Farbe sich bei der Bindung von Aminosäuren und Proteinen ändert. Die Farbintensität des gebildeten blau-lila Komplexes ist direkt proportional zur Gesamtproteinkonzentration. Sie wird durch Messung der Extinktionszunahme bei 583nm photometrisch bestimmt.

Bestimmung des Nass- und Trockengewichts der Lunge

Zur Bestimmung des Nass-Trockengewichtsverhältnisses (wet/dry ratio) der Lunge wurde der rechte Oberlappen der nicht lavagierten rechten Lunge reseziert und gewogen: Mit einer Analysenwaage („Explorer“, Fa. Ohaus, Giessen) wurde das Nassgewicht gemessen und das Lungengewebe anschließend über 48h bei 45°C in einer Trockenkammer (TH15, Fa. Edmund Bühler, Tübingen) platziert. Nach dem Abschluss der Trocknung wurde das Trockengewicht bestimmt und mit dem Ausgangswert ins Verhältnis gesetzt. Der so gewonnene Wert ist ein Marker zur Abschätzung der Ödemkomponente der Lungenschädigung.

4.6. Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung unserer Studienergebnisse verwendeten wir das Statistik-Software-Paket SPSS (SPSS GmbH, München; Version 19).

Mit den folgenden Variablen führten wir eine multivariate Varianzanalyse (Multivariate Two Way Analysis Of Variance - MANOVA) durch:

- arterieller Blutdruck
- Herzfrequenz
- Herzzeitvolumen
- zentraler Venendruck
- arterielle Sauerstoffsättigung
- arterieller Sauerstoffpartialdruck
- arterieller Kohlendioxidpartialdruck
- pH-Wert im arteriellen Blut
- Atemwegsspitzendruck
- mittlerer Atemwegsdruck
- Anzahl der Leukozyten im Blut
- neutrophile Granulozyten Im Blut
- Interleukin 1 β und IL- 6 im Blut

Dafür verwendeten wir im SPSS den Term „Messwertwiederholung“ mit den Faktoren Zeit, Tidalvolumen und Alter.

Wenn sich in der MANOVA signifikante Unterschiede zeigten, wurde bei den entsprechenden Variablen zum Nachweis von Gruppeneffekten eine Post-Hoc-Analyse (Tukey B) durchgeführt.

Für die folgenden, einmalig erhobenen Werte, wurde eine univariate Varianzanalyse (Analysis Of Variance - ANOVA) mit den Faktoren Alter und Tidalvolumen, sowie ebenfalls eine Post-Hoc Analyse durchgeführt:

- Proteinkonzentration in der bronchoalveolären Lavage
- Anzahl der neutrophilen Granulozyten in der BAL
- Anzahl der Makrophagen in der BAL
- Interleukin 1 β und IL- 6 in der BAL
- Macrophage inflammatory protein 2 in der BAL
- wet/dry ratio der Lunge (Nass-/Trockengewicht)

Ein Niveau von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant festgelegt.

Sämtliche Werte werden als Mittelwerte mit dem zugehörigem Standardfehler des Mittelwerts (SEM) angegeben.

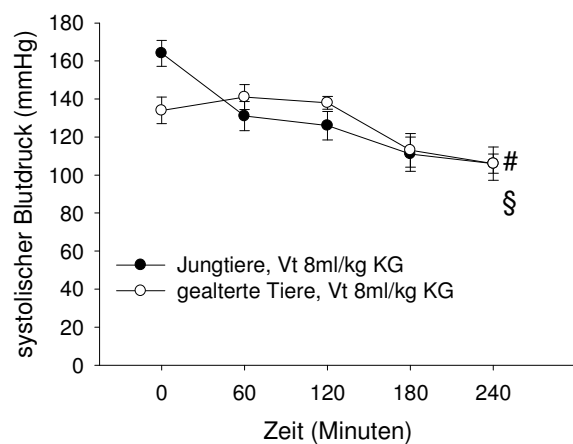
5. Ergebnisse

5.1. Hämodynamische Parameter während der Beatmungsphase

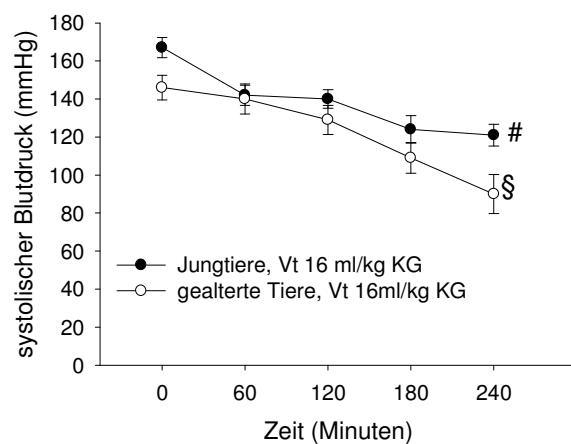
Blutdruck

Bei allen Versuchsgruppen fiel der Blutdruck während der Beatmungsphase signifikant ab. Bei Beatmung mit 24ml/kg KG Tidalvolumen fiel der systolische Blutdruck bei den gealterten Tieren signifikant stärker ab als bei den jungen Tieren. Bei den anderen Gruppen ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Altersgruppen feststellen.

A



B



C

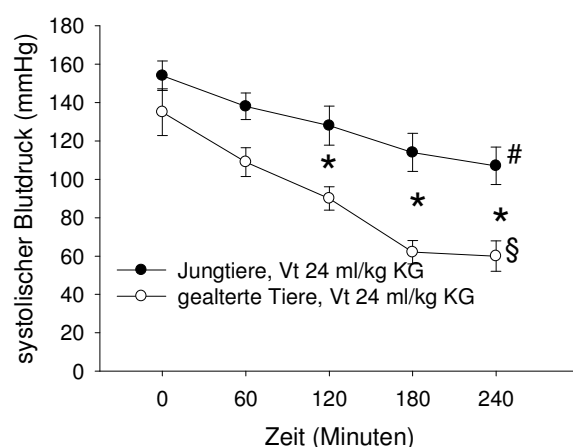


Abb. 1 A, B und C: Verlauf der systolischen Blutdruckwerte (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml/kg Körpergewicht).

und \$ entsprechen $p < 0,05$ versus Blutdruck zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der jeweiligen Gruppe (# Jungtiere, \$ gealterte Tiere)

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml/kg KG

Herzfrequenz

Die Herzfrequenz veränderte sich bei allen Gruppen im Versuch nicht signifikant. Auch in Abhängigkeit vom Tidalvolumen ließen sich, hinsichtlich der Mittelwerte, keine Unterschiede nachweisen.

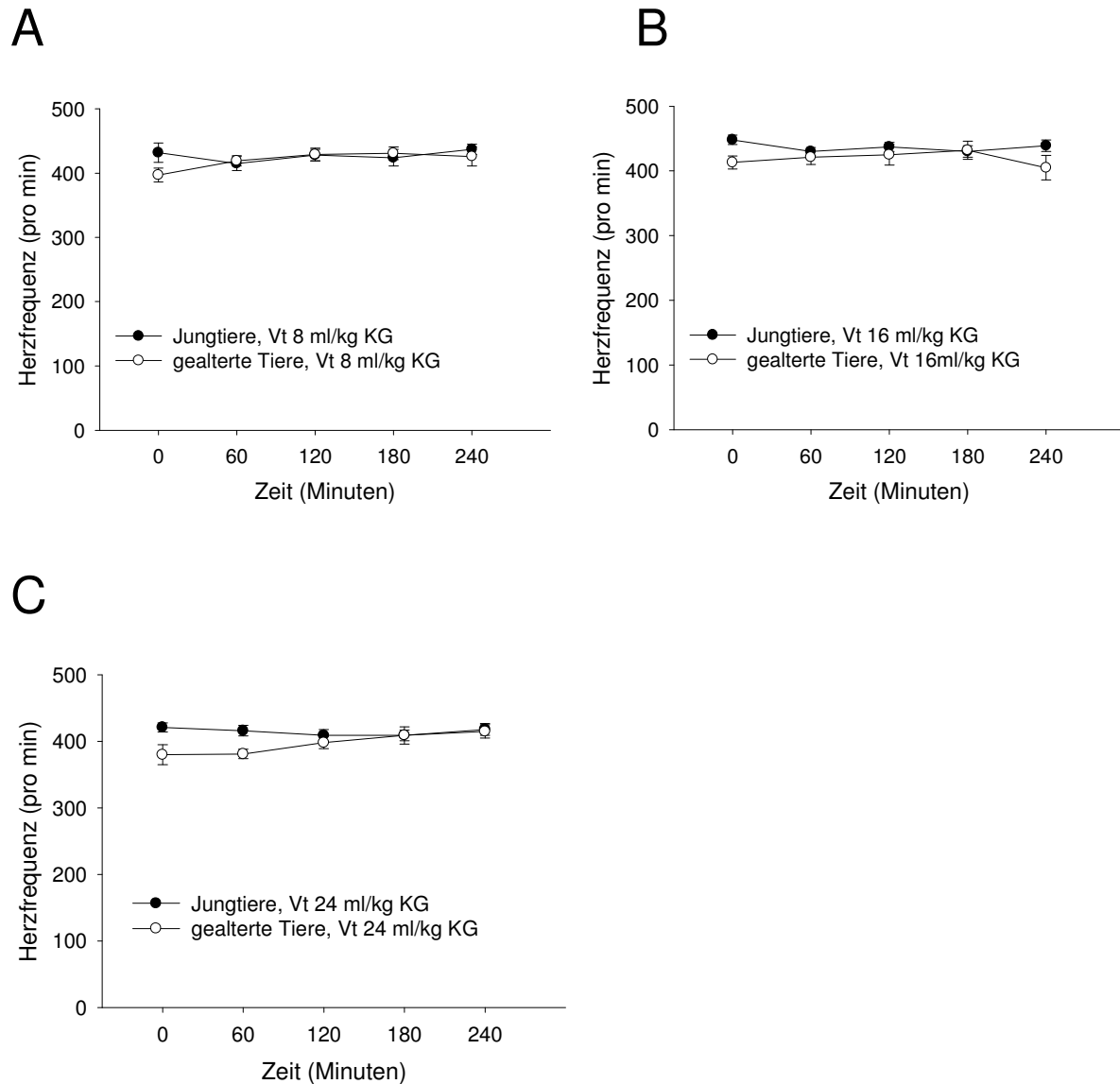


Abb. 2 A, B und C: Herzfrequenz (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml /kg Körpergewicht).

Herzzeitvolumen

Unter Beatmung mit 24ml/kg KG Tidalvolumen fiel das HZV am Ende des Versuches in beiden Altersgruppen signifikant ab. Die Gruppe der gealterten Tiere mit 24ml/kg Tidalvolumen hatte zum Endzeitpunkt signifikant niedrigere HZV- Werte, als die Gruppe der jungen Tiere mit dem gleichen Tidalvolumen pro kg Körpergewicht. Bei allen anderen Gruppen gab es keine signifikanten Veränderungen im zeitlichen Verlauf und keine nachweisbaren Unterschiede zwischen gealterten und jungen Tieren.

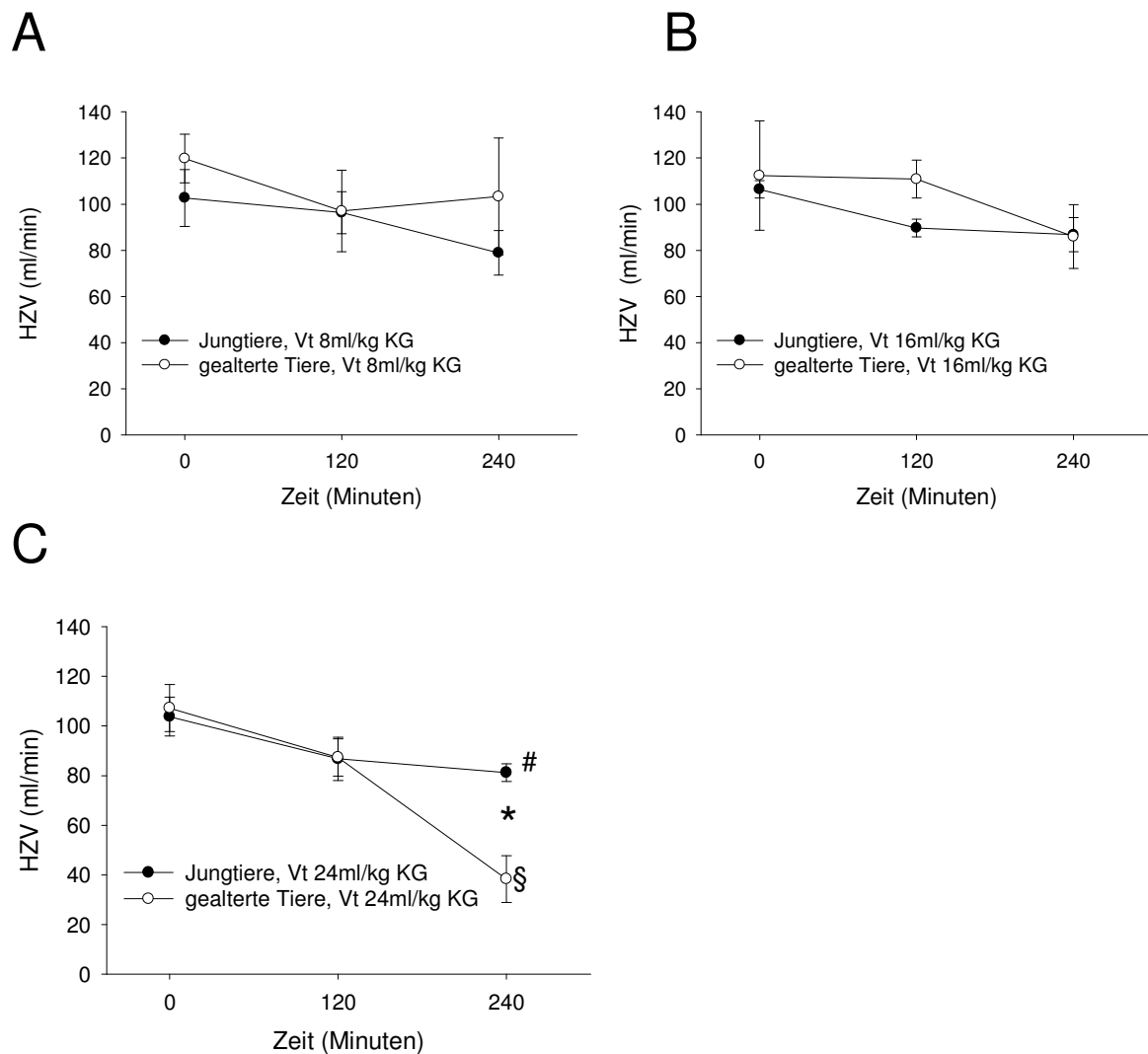


Abb. 3 A, B und C: Herzzeitvolumen (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml /kg Körpergewicht).

und § entsprechen $p < 0,05$ versus HZV zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der jeweiligen Gruppe (# Jungtiere, § gealterte Tiere)

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml/kg KG

Zentraler Venendruck

Die Mittelwerte des zentralen Venendrucks unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht. Über die Dauer der Beatmung waren in keiner Versuchsgruppe signifikante Änderungen des ZVD nachweisbar.

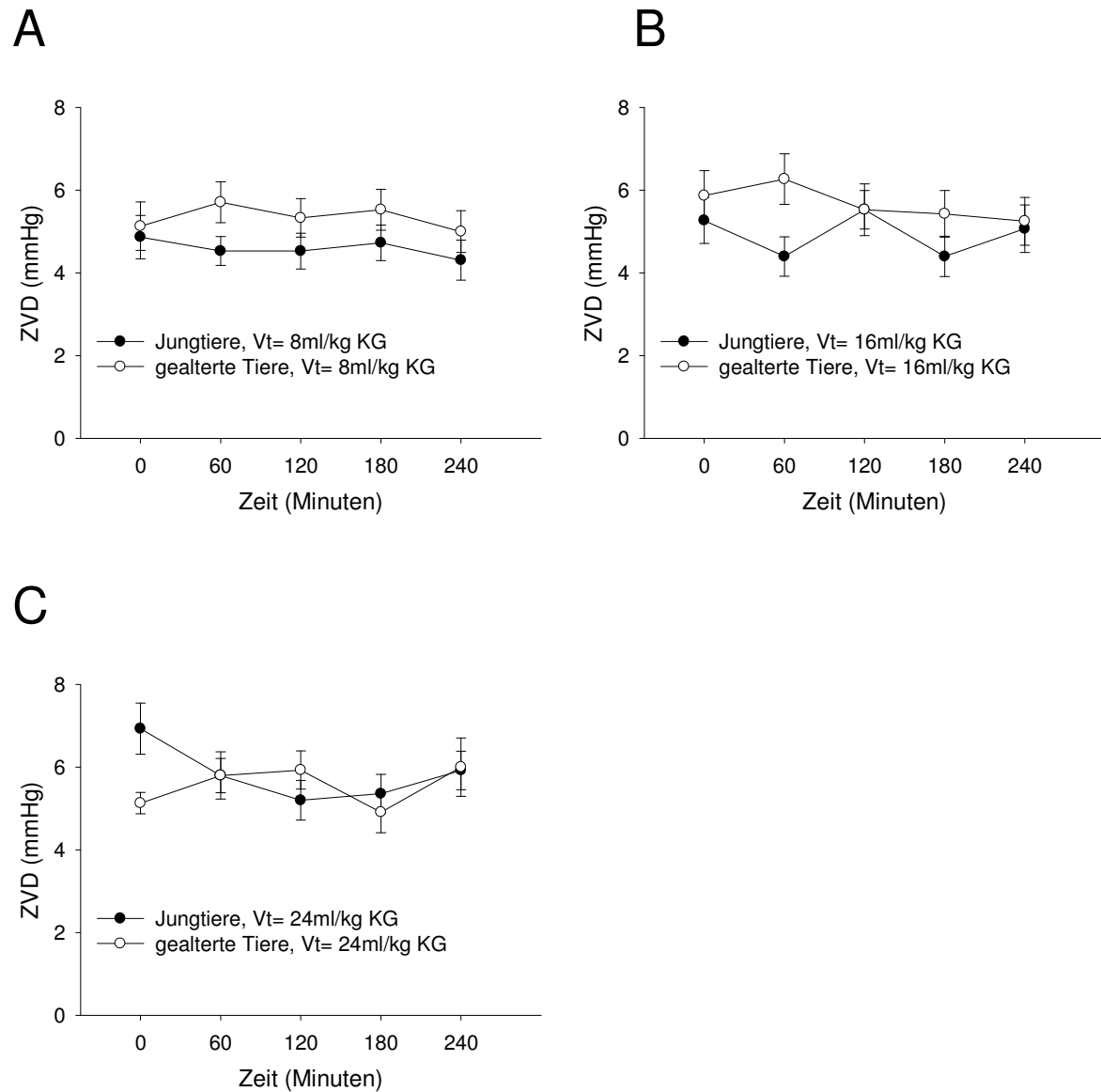


Abb. 4 A, B und C: Zentraler Venendruck (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24 ml/kg Körpergewicht).

5.2. Arterielle Blutgasanalyse während der Beatmungsphase

Arterielle Sauerstoffsättigung

Die Sauerstoffsättigung im Blut verbesserte sich im Versuchsverlauf bei allen Versuchsgruppen signifikant, bis auf die Gruppe der Jungtiere mit 16ml Tidalvolumen pro kg KG und die Gruppe der gealterten Tiere mit 24ml/kg KG. Hier war im Verlauf keine Änderung nachweisbar. In der Gruppe der gealterten Tiere mit 24ml Tidalvolumen war die SaO₂ nach 4 Stunden Beatmung signifikant niedriger als in der Gruppe der Jungtiere mit 24ml/kg KG Tidalvolumen.

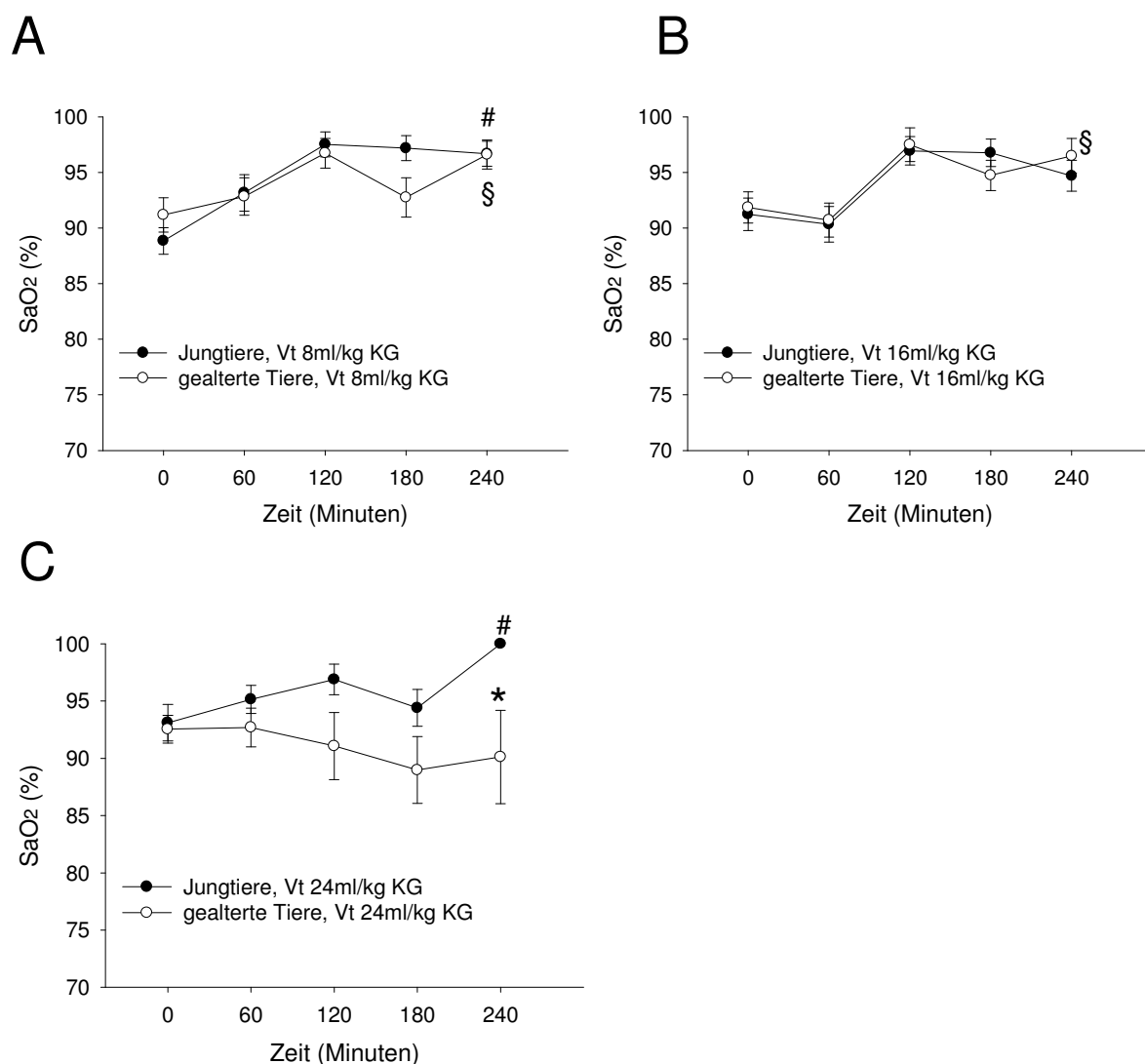


Abb. 5 A, B und C: Sauerstoffsättigung im arteriellen Blut (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml /kg Körpergewicht).

und § entsprechen $p < 0,05$ versus Sauerstoffsättigung zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der jeweiligen Gruppe (# Jungtiere, § gealterte Tiere)

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml/kg KG

Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut

Der PaO_2 fiel bei der Gruppe der gealterten Tiere mit einem Tidalvolumen von 24ml/kg KG, im Vergleich zu den entsprechenden Jungtieren und im Vergleich zu den Werten zu Beginn der Beatmung, signifikant ab. Bei den Gruppen mit einem Tidalvolumen von 8 und 16ml/kg KG zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

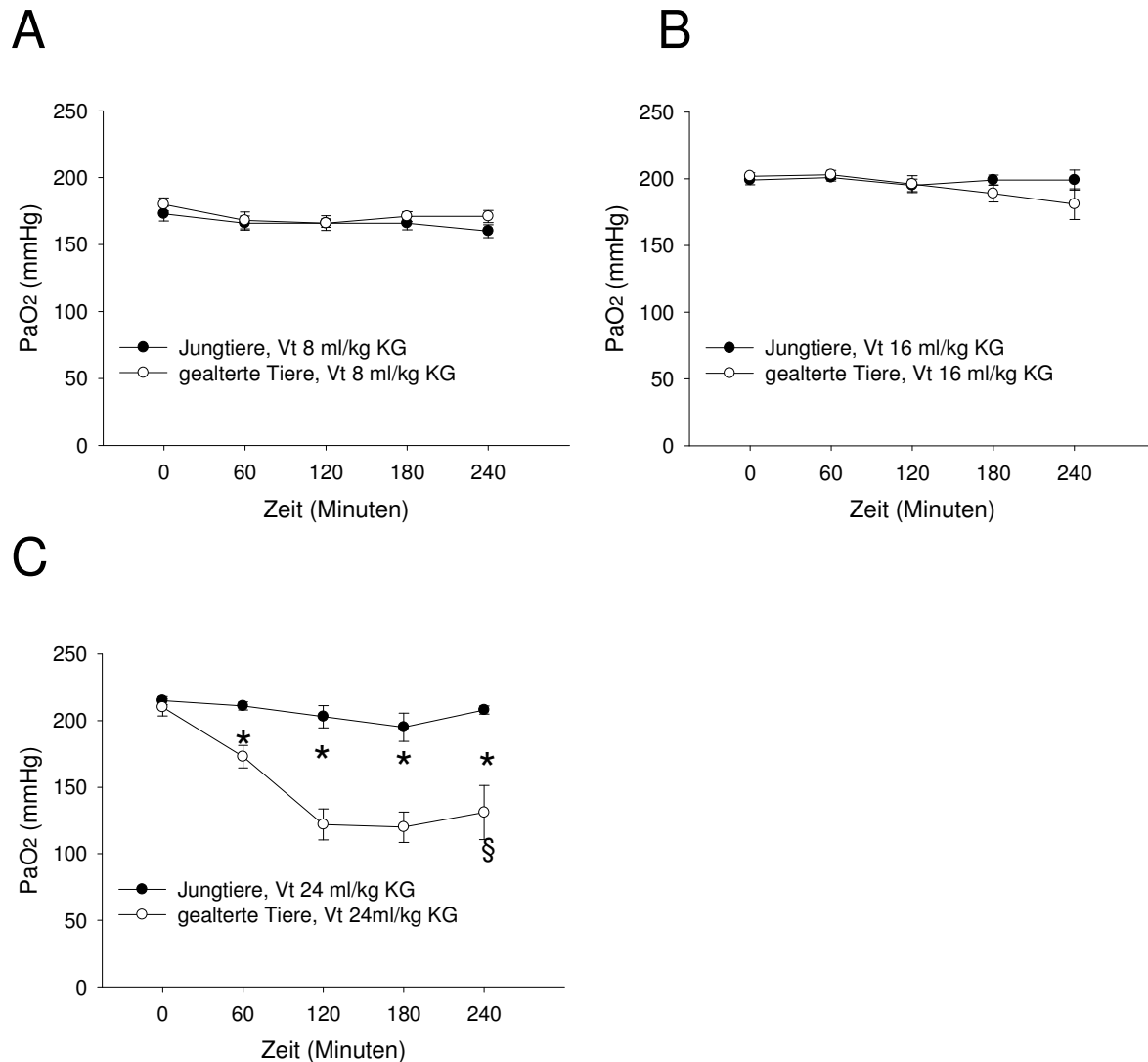


Abb. 6 A, B und C: Sauerstoffpartialdruck im arteriellen Blut (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml/kg Körpergewicht).

§ entspricht $p < 0,05$ versus Sauerstoffpartialdruck zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der Gruppe der gealterte Tiere mit Vt 24ml/kg KG

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml/kg KG

Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen Blut

In der Gruppe mit 8ml/kg KG Tidalvolumen waren die PaCO₂-Werte der gealterten Tiere während der gesamten Beatmungsphase signifikant niedriger als bei den jungen Tieren.

In den anderen Gruppen ließ sich weder im zeitlichen Verlauf, noch altersabhängig ein statistischer Unterschied nachweisen.

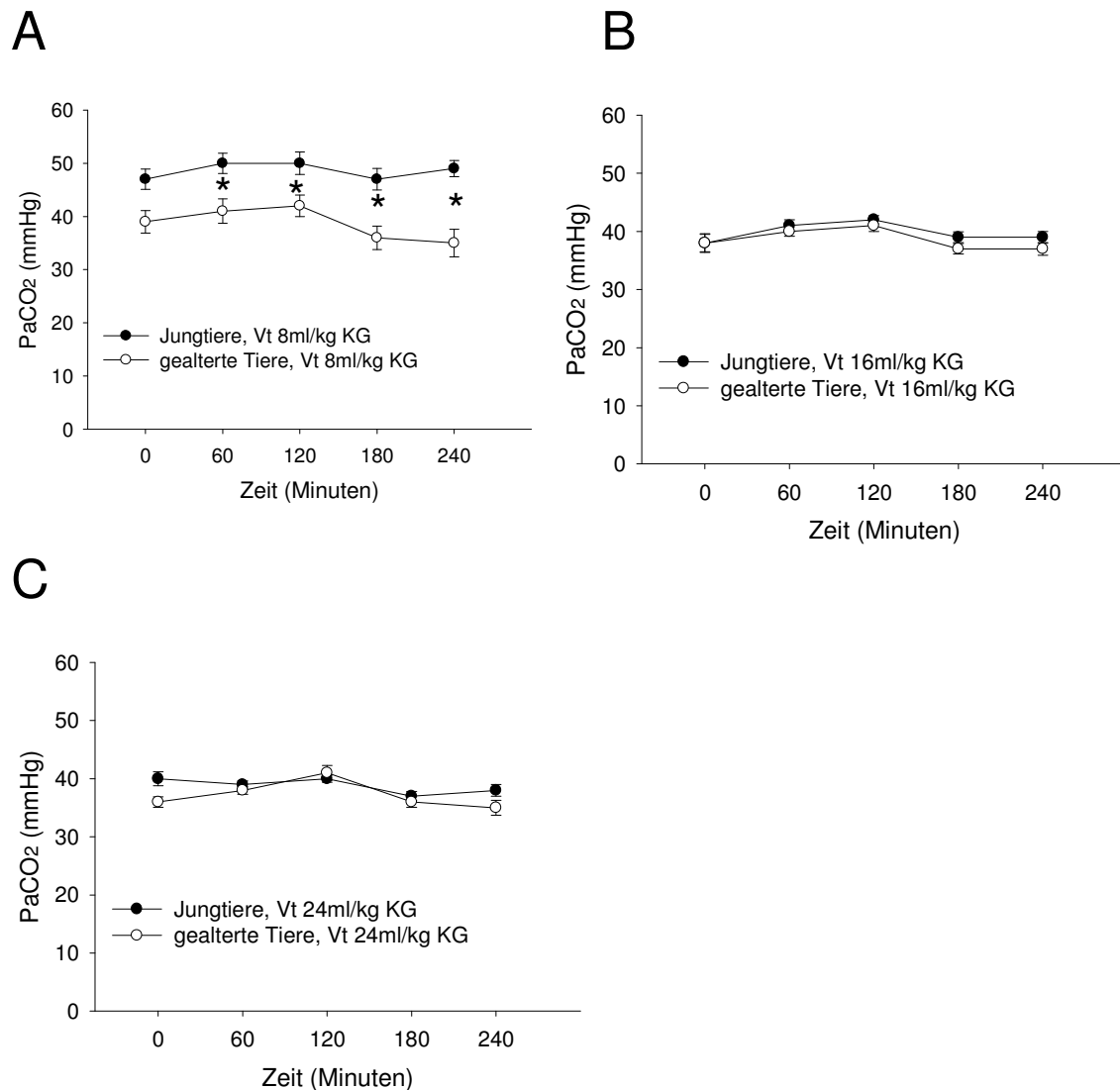


Abb. 7 A, B und C: Kohlendioxidpartialdruck im arteriellen Blut (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml /kg Körpergewicht).

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit einem Tidalvolumen von 8 ml/kg KG

pH-Wert im arteriellen Blut

Bei Beatmung mit 24ml/kg KG Tidalvolumen kam es bei den gealterten Tieren zu einem Abfall des pH-Werts über die Dauer der Beatmung. Zum Versuchsende (nach 4 Stunden Beatmung) war der arterielle pH-Wert der gealterten Tiere mit 24ml/kg KG signifikant niedriger, als bei den korrespondierenden Jungtieren. Bei Beatmung mit einem Tidalvolumen von 8 bzw. 16ml/kg KG gab es keine signifikanten Veränderungen im zeitlichen Verlauf oder altersabhängige Unterschiede.

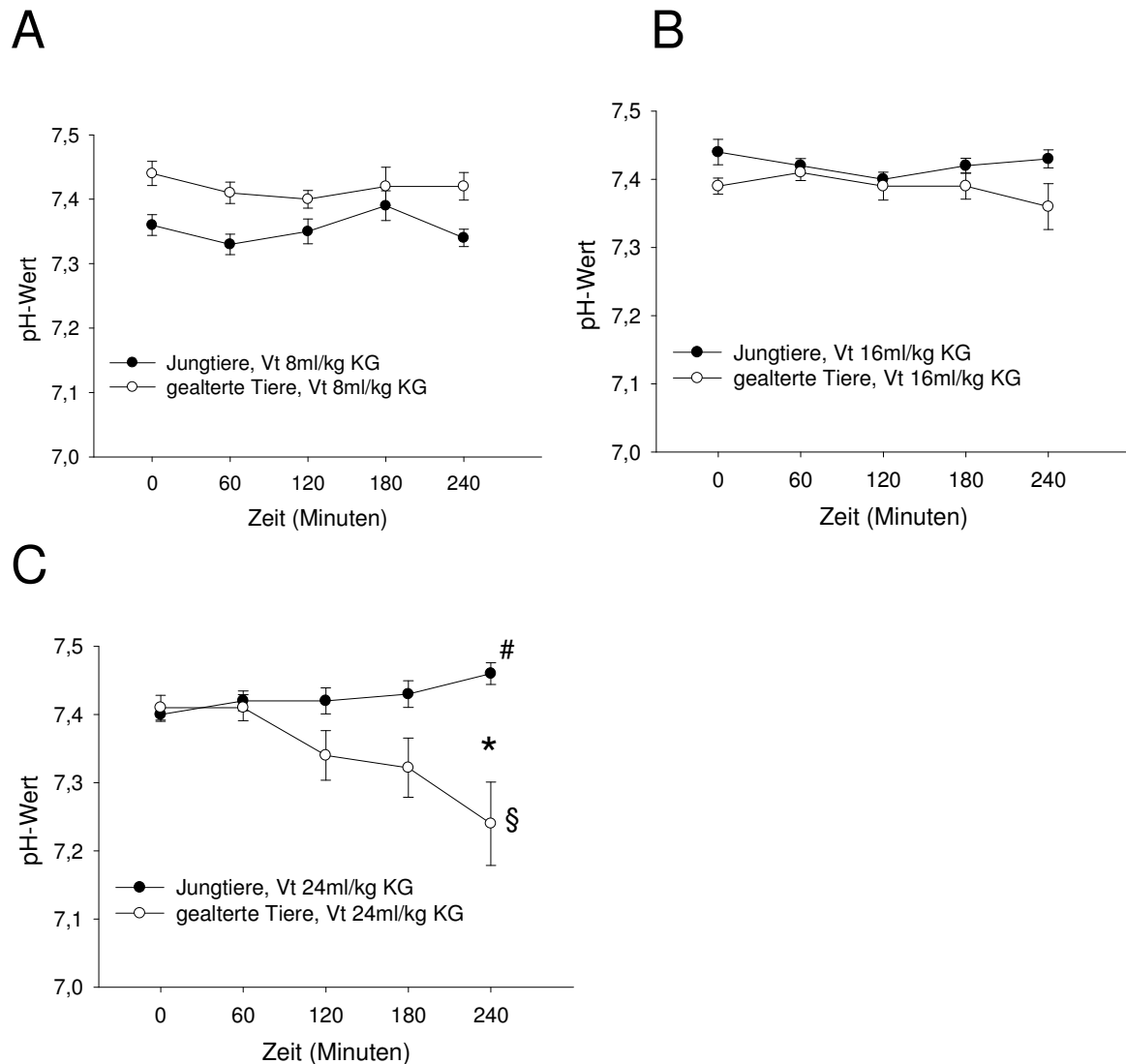


Abb. 8 A, B und C: pH-Wert im arteriellen Blut (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml/kg Körpergewicht).

und § entsprechen $p < 0,05$ versus pH-Wert zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der Gruppen mit einem Tidalvolumen von 24ml/kg KG (# Jungtiere, § gealterte Tiere)

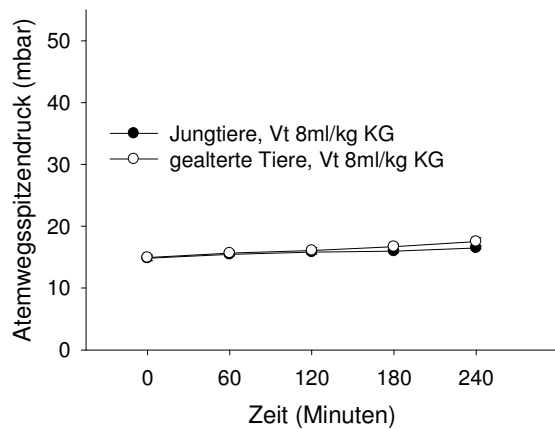
* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml/kg KG

5.3. Atemwegsdrücke

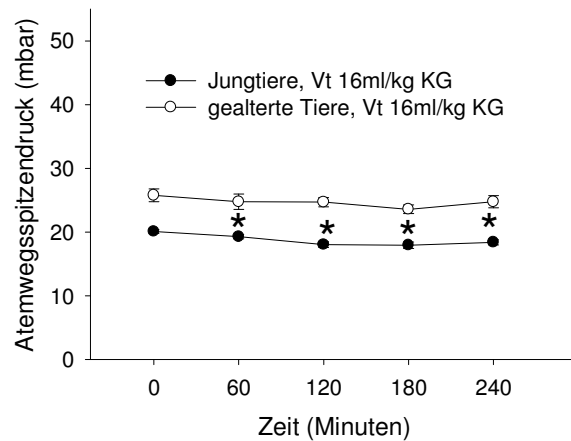
Atemwegsspitzenndruck

Der Beatmungsspitzenndruck war umso höher, je größer das gewählte Tidalvolumen pro kg Körpergewicht war. Bei den mit 16 und 24ml/kg KG beatmeten Gruppen waren die Atemwegsspitzenndrücke der gealterten Ratten höher, als bei den entsprechenden Jungtieren. In den beiden Gruppen mit 24ml/kg KG Tidalvolumen waren die Spitzenndrücke am Ende der Beatmungsphase signifikant niedriger als zu Beginn.

A



B



C

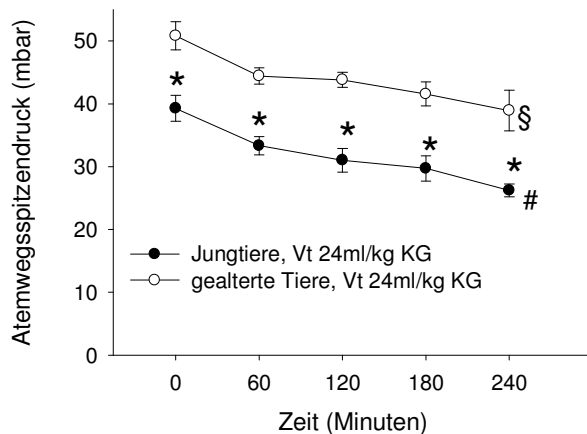


Abb. 9 A, B und C: Atemwegsspitzenndrücke (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml/kg Körpergewicht).

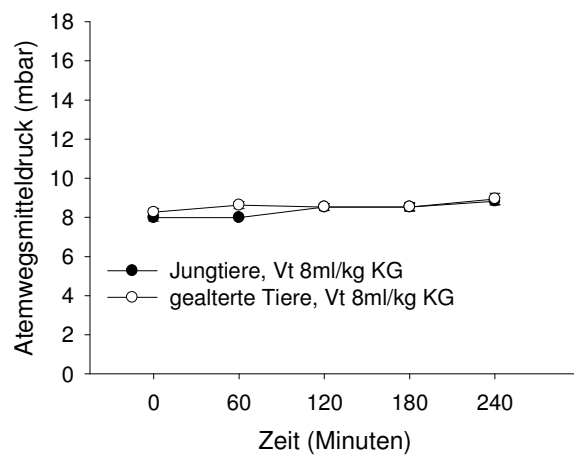
und § entsprechen $p < 0,05$ versus Druckwerte zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der Gruppen mit einem Tidalvolumen von 24ml/kg KG (# Jungtiere, § gealterte Tiere)

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit jeweils korrespondierendem Tidalvolumen

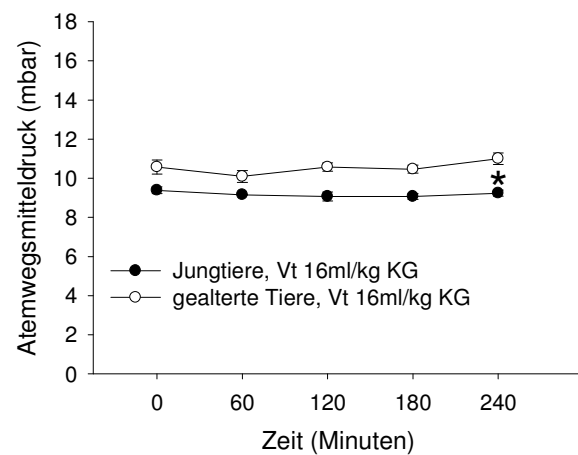
Mittlerer Atemwegsdruck

Zwischen den jungen und gealterten Ratten ergab sich bei den mit 16 ml/ kg KG beatmeten Tieren am Versuchsende, bei den mit 24ml/kg KG beatmeten Tieren an allen Messzeitpunkten des Versuches ein signifikanter Unterschied: Die gealterten Tiere wiesen hier jeweils höhere mittlere Beatmungsdrücke auf ,als die korrespondierenden Jungtiere. Über die Dauer der Beatmung waren bei allen Versuchstiergruppen keine signifikanten Änderungen nachweisbar.

A



B



C

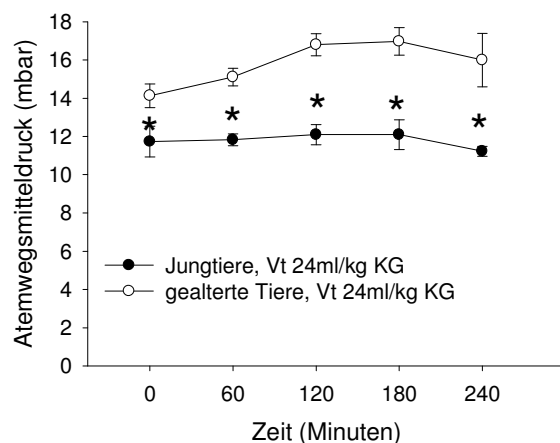


Abb. 10 A, B und C: mittlere Beatmungsdrücke (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) während 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen (8; 16 bzw. 24ml/ kg Körpergewicht).

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit jeweils korrespondierendem Tidalvolumen

5.4. Ergebnisse der bronchoalveolären Lavage

Proteinkonzentration in der Lavage

Es gab keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Proteinkonzentration in der Lavage nach Beatmung mit einem Tidalvolumen von 8 bzw. 16 ml/kg KG. Beatmung mit einem Tidalvolumen von 24 ml/kg KG führte bei gealterten Tieren zu signifikant höheren Konzentrationen in der Lavage als bei jungen Tieren.

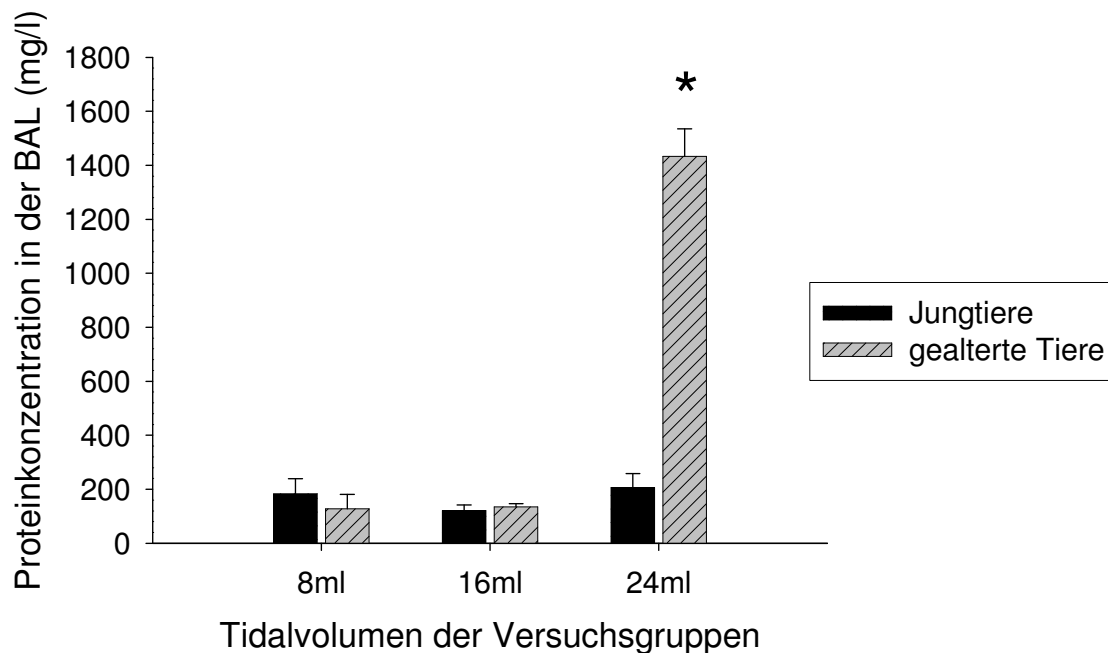


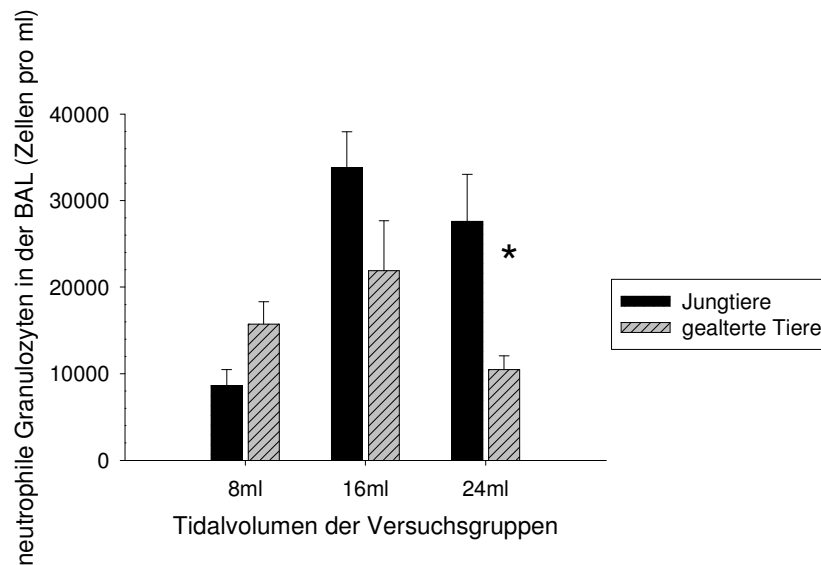
Abb.11: Proteinkonzentration in der bronchoalveolären Lavage nach 4-stündiger Beatmung (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und appliziertem Tidalvolumen 8; 16 und 24ml/kg Körpergewicht).

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml /kg KG

Neutrophile Granulozyten und Makrophagen in der Lavage

In der Lavage der gealterten Tiere mit 24ml Tidalvolumen pro kg Körpergewicht waren die Mittelwerte der Zellzahlen von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen signifikant niedriger, als bei den Jungtieren mit dem gleichen Tidalvolumen pro kg Körpergewicht.

A



B

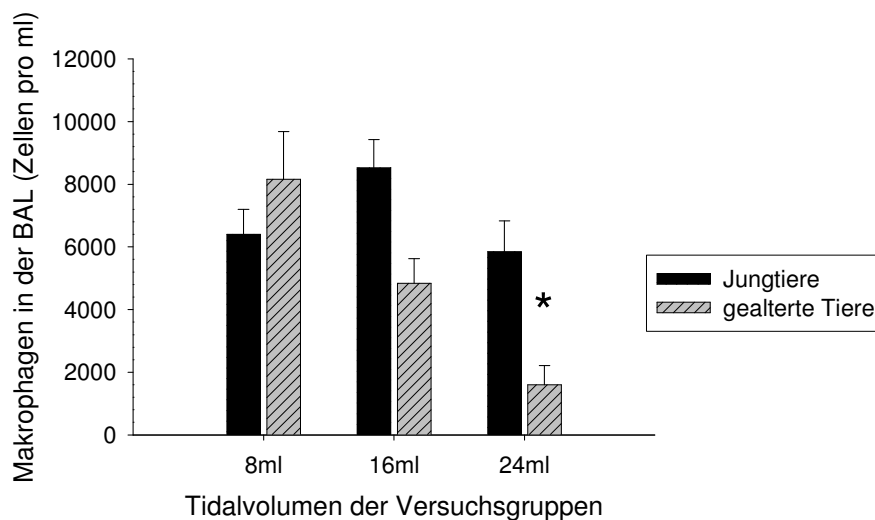


Abb.12 A und B: Anzahl neutrophiler Granulozyten und Makrophagen in der bronchoalveolären Lavage nach 4-stündiger Beatmung (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24ml/kg Körpergewicht).

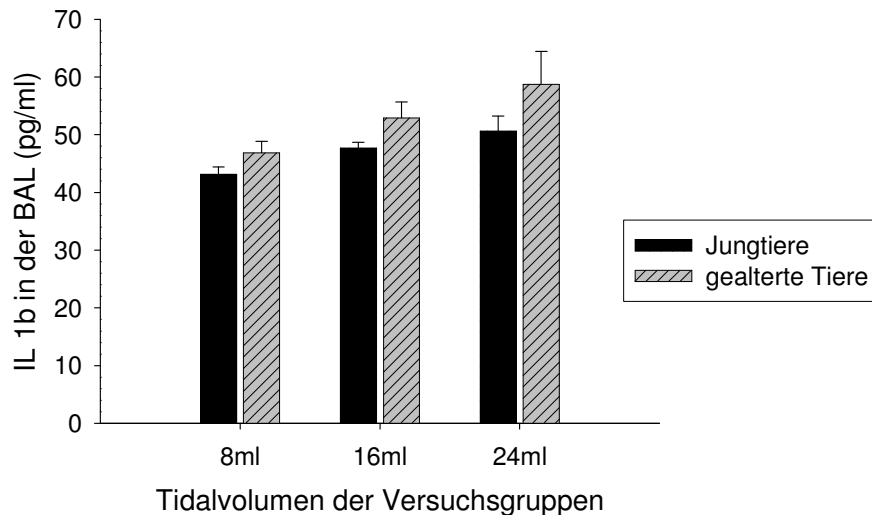
* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml /kg KG

Interleukin 1 β und Interleukin 6 in der Lavage

Im Falle des IL-1 β ließen sich statistisch keine Differenzen der Mittelwerte zwischen den einzelnen Gruppen nachweisen.

Die Konzentration von IL-6 in der Lavage war bei Beatmung mit einem Tidalvolumen von 24 ml/kg KG bei gealterten Ratten signifikant höher als bei den jungen Tieren.

A



B

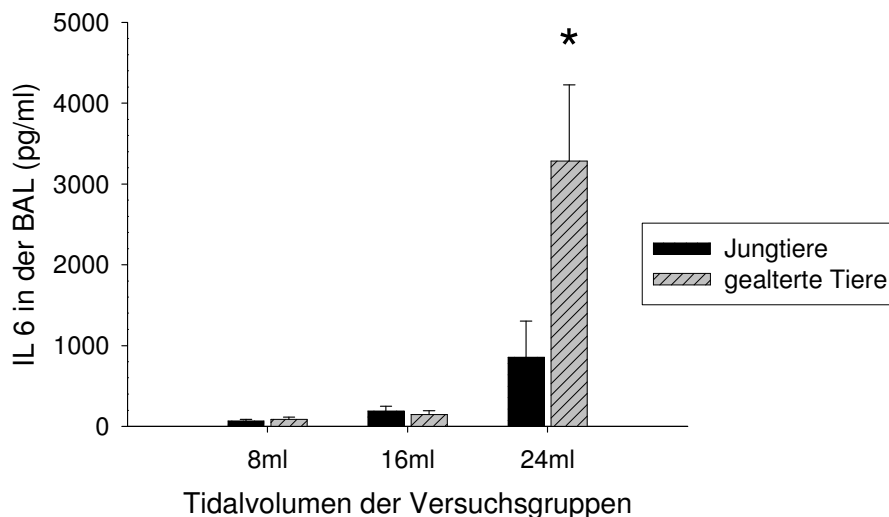


Abb. 13 A und B : Konzentration von Interleukin 1 β und Interleukin 6 (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) in der bronchoalveolären Lavage nach 4-stündiger Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24 ml/kg Körpergewicht).

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml /kg KG

Macrophage Inflammatory Protein 2 (MIP 2 α) in der Lavage

Es gab keine signifikanten Unterschiede in der Konzentration von MIP-2 α in der Lavage, in Abhängigkeit von Alter oder Tidalvolumen der Versuchstiere.

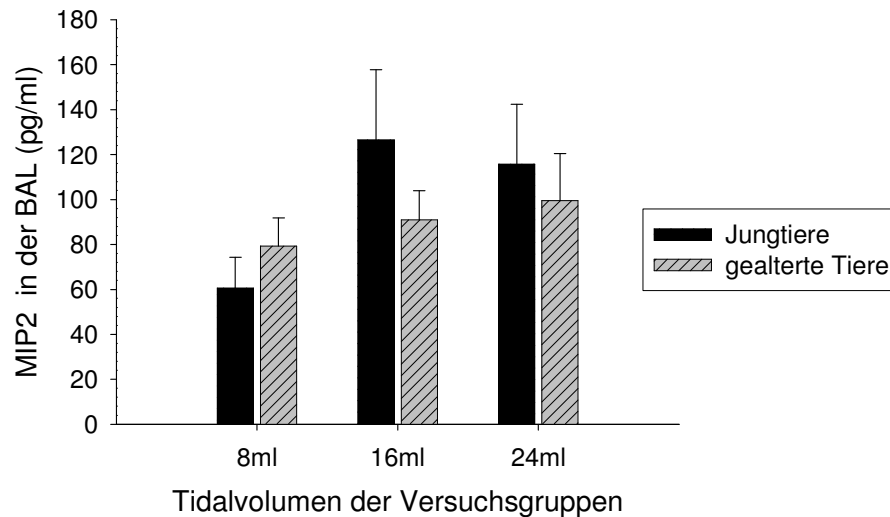


Abb.14: Konzentration von Macrophage Inflammatory Protein 2 (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) in der bronchoalveolären Lavage nach 4-stündiger Beatmung (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24ml /kg KG)

5.5. Verhältnis des Nass- und Trockengewichtes (wet/dry-ratio) der Lunge

Der Quotient aus Nassgewicht und Trockengewicht des jeweils rechten Oberlappens der Lunge war nach Beatmung mit einem Tidalvolumen von 24 ml/kg KG bei den gealterten Tieren signifikant größer als bei den jungen Tieren.

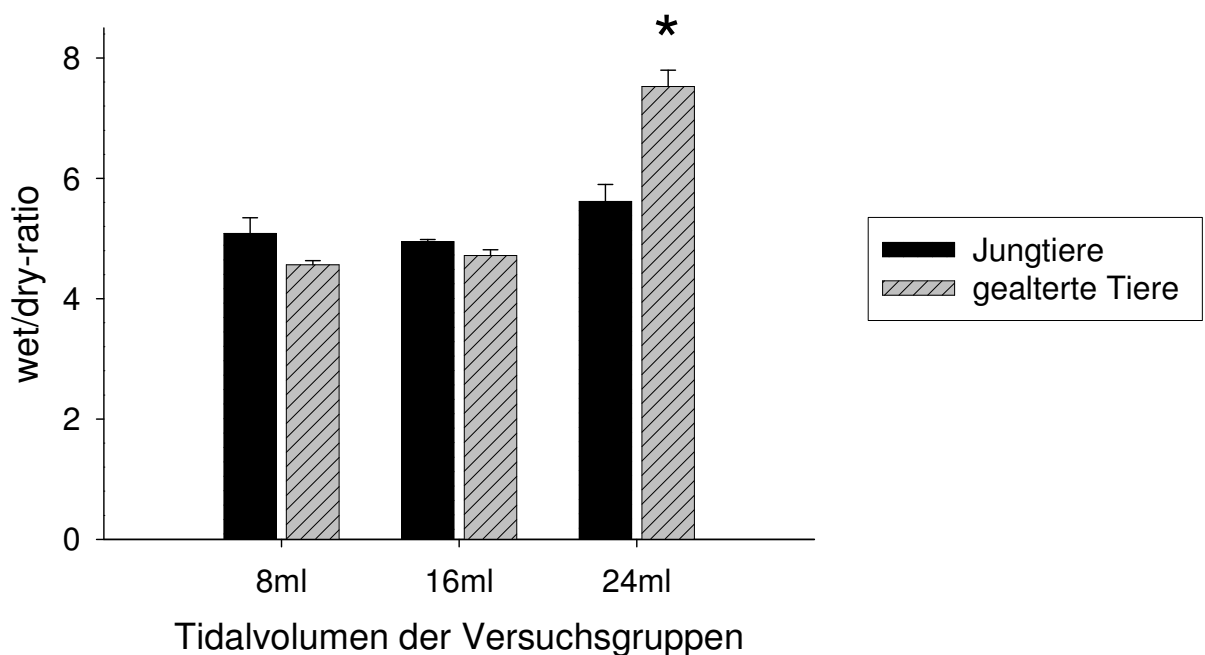


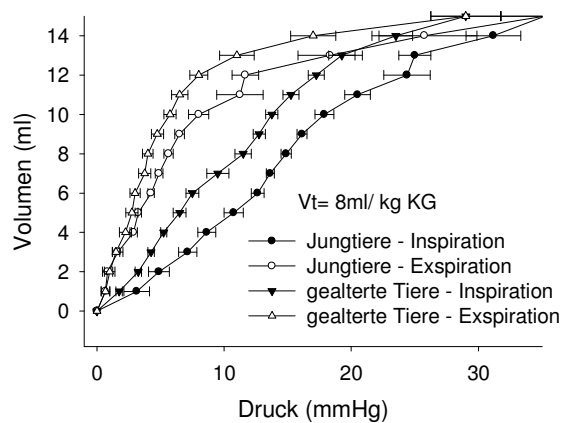
Abb. 15: Quotient aus Nass- und Trockengewicht (wet/dry-ratio) der jeweils rechten Lungenoberlappen nach 4-stündiger Beatmung (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere), und Tidalvolumen (8; 16 und 24 ml/ kg KG)

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml/kg KG

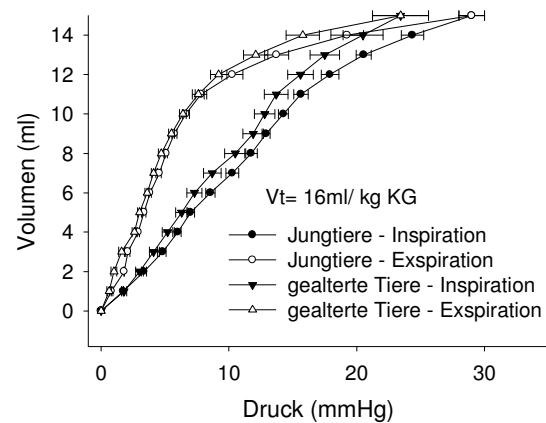
5.6. Statische Druck-Volumenkurven nach der Beatmungsphase

Nach 4 Stunden Beatmung mit einem Tidalvolumen von 8ml/kg Körpergewicht war die Lungencompliance der gealterten Tiere besser als die der jungen Tiere. Dagegen führte Beatmung mit 24ml/kg KG zu einer reduzierten Compliance der gealterten Tiere im Vergleich zu den korrespondierenden Jungtieren

A



B



C

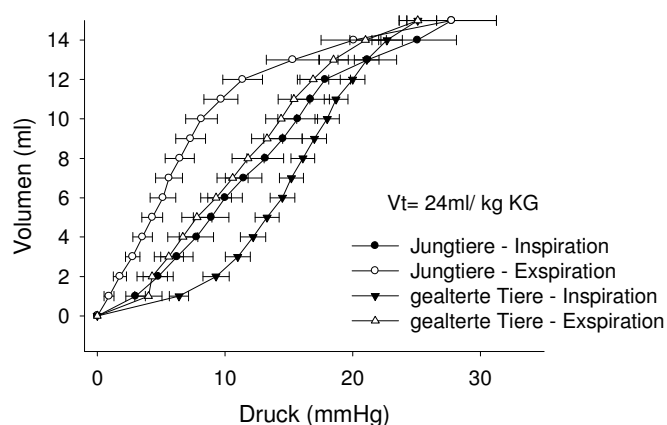


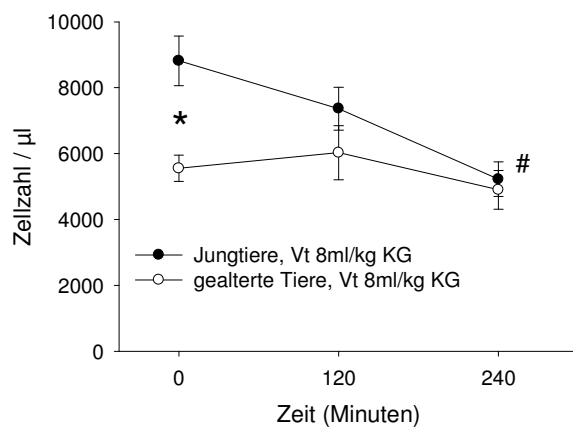
Abb. 16 A, B und C: Statische Compliance der Lunge (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) nach 4 Stunden Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere), und Tidalvolumen (8; 16 und 24 ml/ kg KG)

5.7. Entzündungsparameter im Blut während der Beatmungsphase

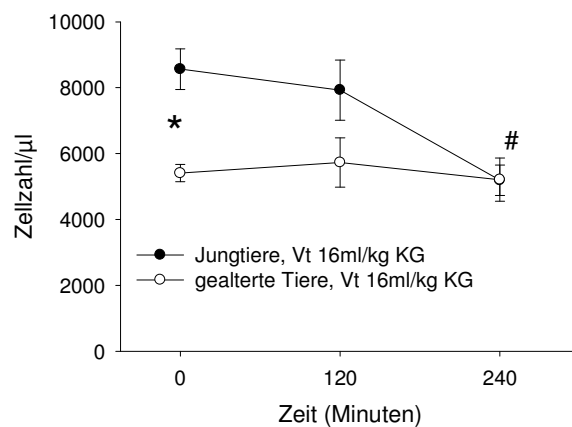
Leukozyten im Blut

Zu Versuchsbeginn waren die Leukozytenzahlen im Blut bei den gealterten Tieren niedriger als bei den Jungtieren. Während der Beatmungsphase fiel die Gesamtleukozytenzahl im Blut der jungen Tiere ab, während sich die Werte bei den gealterten Tieren nicht signifikant veränderten.

A



B



C

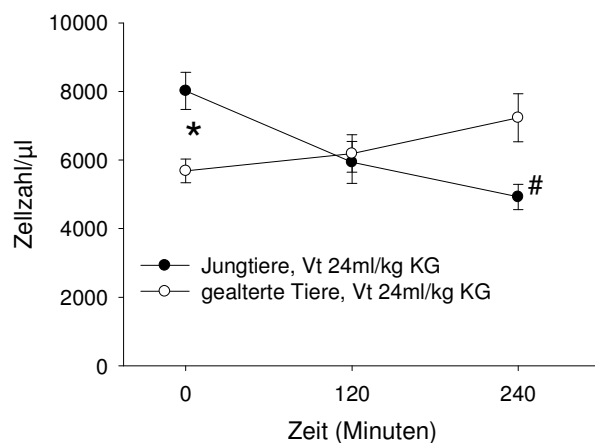


Abb. 17 A, B und C: Anzahl der Leukozyten im Blut (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) zu Beginn, nach 2 und nach 4 Stunden Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24 ml/ kg KG)

entspricht $p < 0,05$ versus Leukozytenzahl zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der Gruppe der Jungtiere

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit jeweils korrespondierendem Tidalvolumen

Neutrophile Granulozyten im Blut

Zu Versuchsbeginn gab es keinen Unterschied zwischen den Zellzahlen von jungen und gealterten Tieren.

Während der Beatmungsphase kam es zu einer signifikanten Zunahme der Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut bei allen Versuchstiergruppen.

Bereits nach 2 und auch nach 4 Stunden Beatmung hatten die gealterten Tiere der Gruppe 24ml/kg KG höhere Zellzahlen im Blut, als die entsprechenden Jungtiere mit dem gleichen Tidalvolumen pro kg KG.

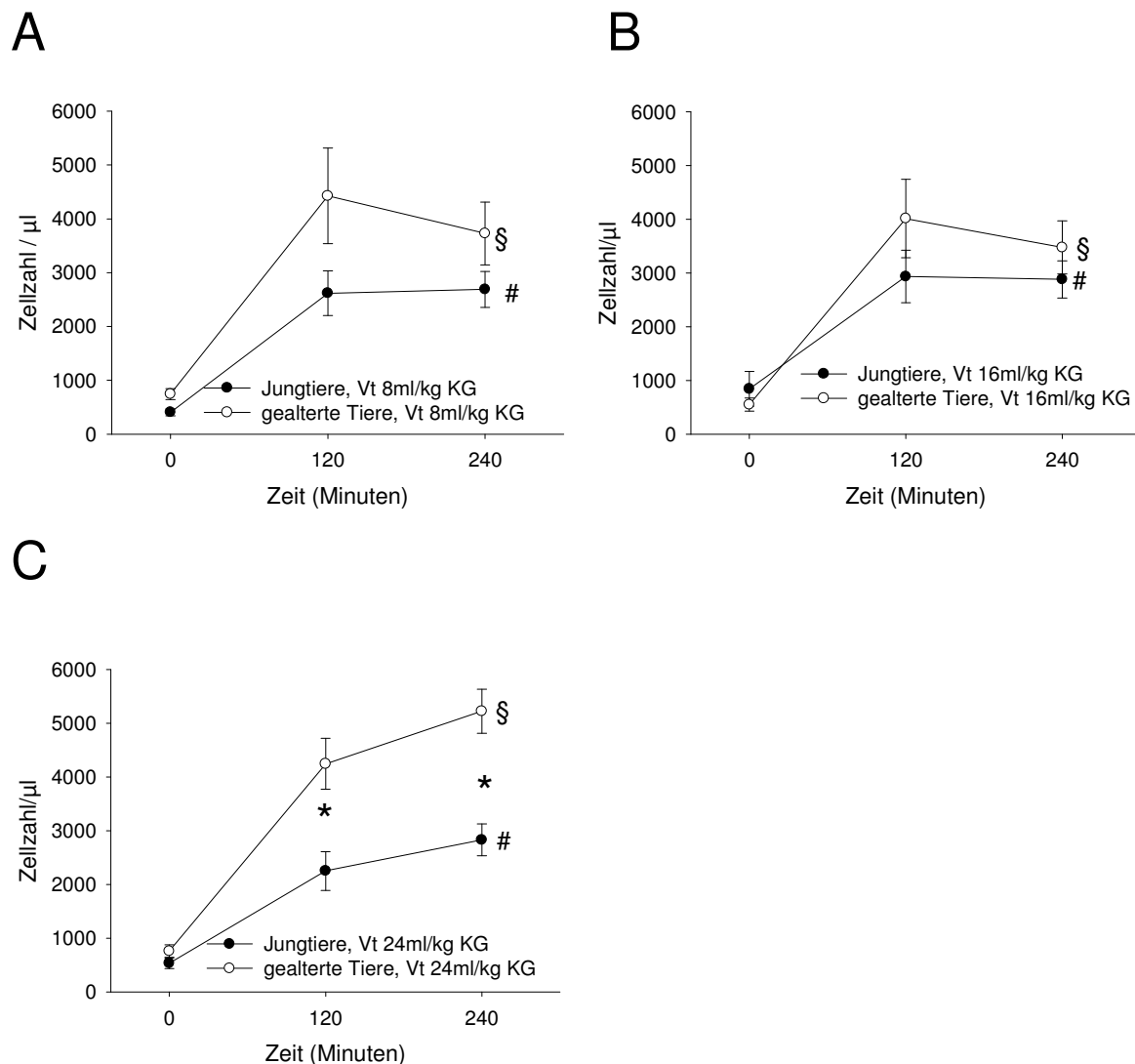


Abb. 18 A, B und C: neutrophile Granulozyten (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) zu Beginn, nach 2 und nach 4 h Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24ml pro kg Körpergewicht)

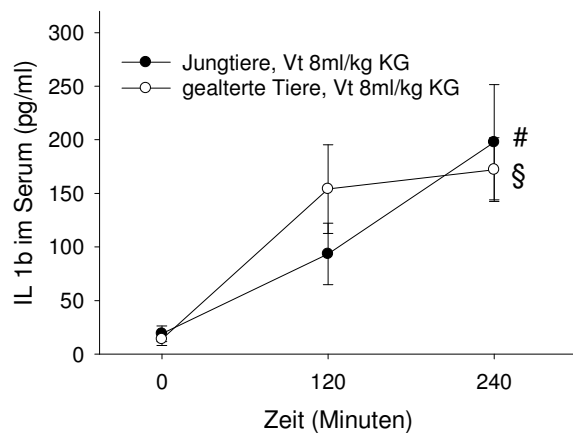
und § entsprechen $p < 0,05$ versus Zellzahl im Blut zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der Gruppe (# Jungtiere, § gealterte Tiere)

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml/kg KG

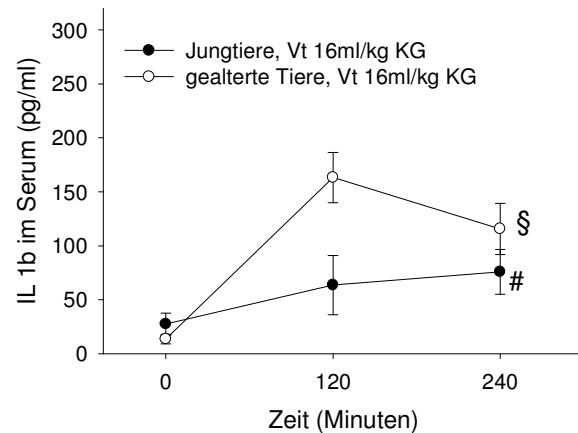
Interleukin 1 β (IL-1 β) im Blut

Die Konzentration des IL-1 β im Serum stieg bei allen Versuchstiergruppen über die Dauer der Beatmung signifikant an. Bei Beatmung mit einem Tidalvolumen von 24ml/kg KG war dieser Anstieg bei den gealterten Tieren signifikant stärker ausgeprägt, als bei den jungen Tieren mit korrespondierendem Tidalvolumen

A



B



C

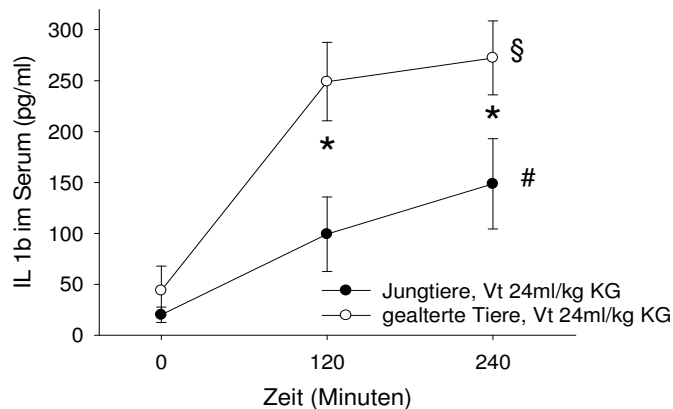


Abb. 19 A, B und C: Interleukin 1 β (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) zu Beginn, nach 2 und nach 4 h Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24ml pro kg Körpergewicht).

und § entsprechen $p < 0,05$ versus IL 1 β Konzentration im Blut zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der Gruppe (# Jungtiere, § gealterte Tiere)

* entspricht $p < 0,05$ Jungtiere versus gealterte Tiere mit Tidalvolumen 24ml/kg KG

Interleukin 6 (IL-6) im Blut

Während des Versuches stieg die Konzentration des IL-6 im Serum bei allen Studiengruppen statistisch signifikant an, ausgenommen die Gruppe der gealterten Tiere mit einem Tidalvolumen von 16ml/kg KG.

Zwischen jungen und gealterten Tieren ließ sich zu den drei Messzeitpunkten kein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten feststellen.

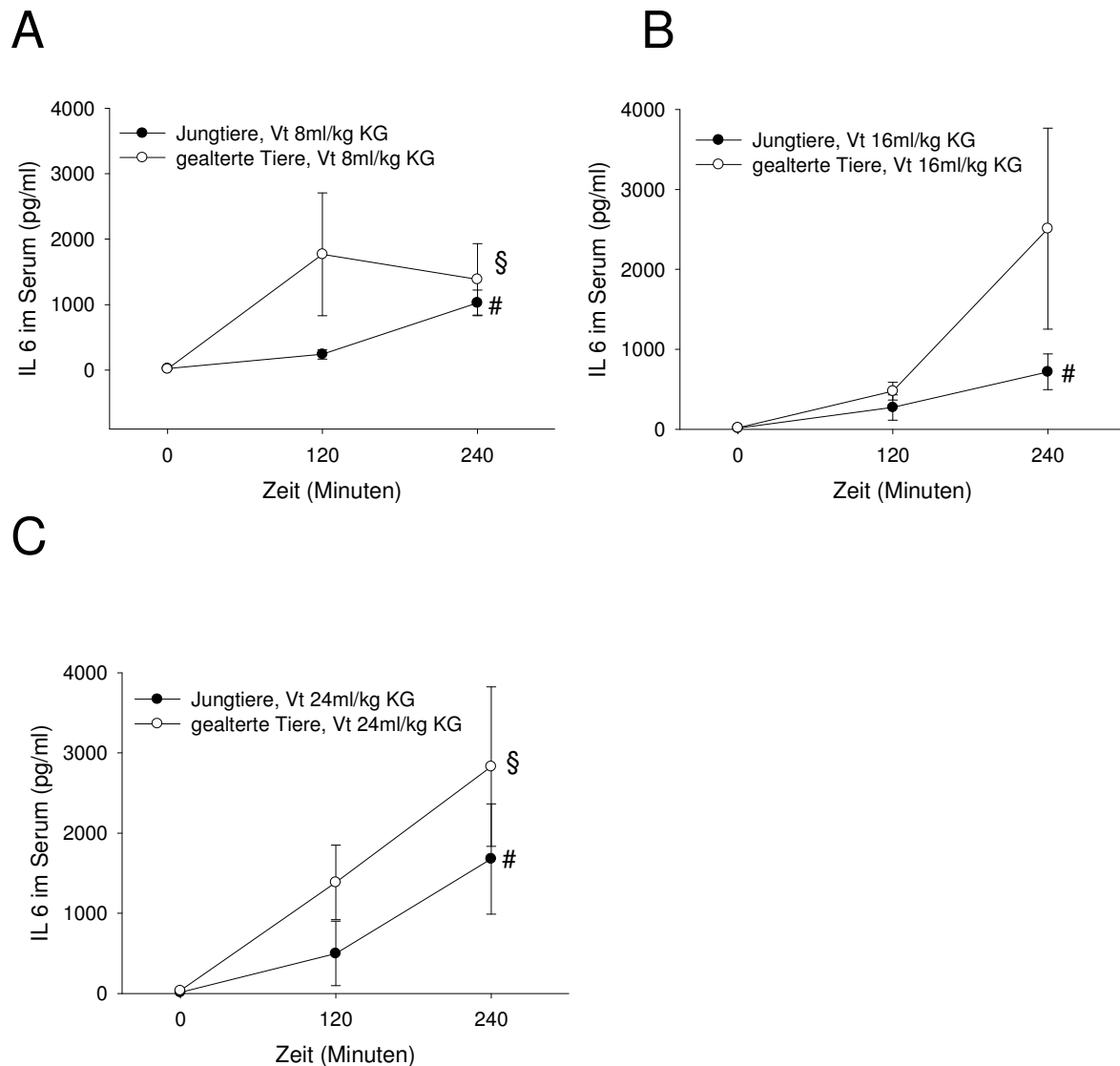


Abb. 20 A, B und C: Interleukin 6 (Mittelwerte und zugehöriger Standardfehler SEM) zu Beginn, nach 2 und nach 4 Stunden Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24ml pro kg Körpergewicht)

und § entsprechen $p < 0,05$ versus IL 6 Konzentration im Blut zu Versuchsbeginn (Zeitpunkt 0) innerhalb der jeweiligen Gruppe (# Jungtiere, § gealterte Tiere)

5.8. Mortalität während der Beatmungsphase

Sterblichkeit innerhalb von 3 Stunden Beatmung

In den Gruppen der Jungtiere lebten alle Versuchstiere länger als 3 Stunden.
Bei den Gruppen der gealterten Tiere war die Sterblichkeit vor dem Versuchsende höher, je größer das gewählte Tidalvolumen pro kg Körpergewicht war.

	Jungtiere	Gealterte Tiere
Vt 8ml/kg KG	0%	0%
Vt 16ml/kg KG	0%	13%
Vt 24ml/kg KG	0%	27%

Übersicht 1: Mortalität (Prozentangaben) innerhalb von 3 Stunden Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24ml pro kg Körpergewicht)

Sterblichkeit innerhalb von 4 Stunden Beatmung

Die höchste Sterblichkeit vor dem Versuchsende war in der Gruppe der gealterten Tiere mit 24ml/kg KG Tidalvolumen zu verzeichnen.

	Jungtiere	gealterte Tiere
Vt 8ml/kg KG	13%	7%
Vt 16ml/kg KG	0%	20%
Vt 24ml/kg KG	20%	67%

Übersicht 2: Mortalität (Prozentangaben) innerhalb von 4 Stunden Beatmung in Abhängigkeit von Alter (Jungtiere versus gealterte Tiere) und Tidalvolumen (8; 16 und 24ml pro kg Körpergewicht)

6. Diskussion

Wir führten eine in vivo Untersuchung an komplex instrumentierten beatmeten Ratten zweier Altersgruppen durch. Hierbei wurden unterschiedlich aggressive Beatmungsstrategien im Hinblick auf ihre pulmonalen und systemischen schädigenden Effekte in beiden Altersgruppen untersucht. Es kamen in beiden Altersgruppen jeweils eine sogenannte schonende Beatmungsstrategie mit niedrigem Tidalvolumen, eine Strategie mit deutlich erhöhtem und eine Strategie mit stark erhöhtem Tidalvolumen zur Anwendung.

Das Hauptergebnis der Untersuchung ist, dass gealterte Tiere im Vergleich zu jüngeren, gerade erwachsenen Tieren eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber schädigender Beatmung aufweisen. Wir fanden diesen Effekt vorwiegend bei Beatmung gealterter Tiere mit sehr hohem Tidalvolumen, sahen aber auch bei Beatmung gealterter Tiere mit moderat erhöhtem Tidalvolumen Veränderungen einzelner Parameter. Die Ergebnisse zeigen zudem, dass die grundsätzlichen pulmonalen und systemischen Effekte schädigender Beatmung, die vielfach von unterschiedlichen wissenschaftlichen Arbeitsgruppen an den typischen jungen erwachsenen Versuchstierkollektiven demonstriert wurden, auch an gealterten Tieren nachweisbar sind.

6.1. Diskussion des experimentellen Settings

Die Ergebnisse unserer Untersuchung wurden in einem tierexperimentellen Setting erhoben, in dem in kurzer Zeit messbare beatmungsassoziierte bzw. –induzierte Veränderungen provoziert wurden. Es kamen, wie in vielen vom experimentellen Ansatz her ähnlichen Untersuchungen (Tremblay et al. 1997) unphysiologische Beatmungseinstellungen zur Anwendung, die im klinischen Alltag üblicherweise nicht eingesetzt werden. Allerdings gelingt es in der Regel nur mit solchen Konzepten zügig, gut messbare Veränderungen zu provozieren und gleichzeitig den Einfluss störender Faktoren (sog. confounding factors) zu begrenzen. Solche Faktoren sind zum Beispiel Narkoseführung, Flüssigkeitszufuhr, katheterbedingte Infektionsgefahr und Kontamination der Atemwege beim beatmeten Kleintier. Mit der Versuchsdauer steigt das Risiko der Auslösung von Inflammation durch andere Faktoren, als durch die geplante Intervention (hier die Beatmung an sich) und damit also auch das Risiko der Verfälschung von Ergebnissen.

Die Beatmungsdauer bei Untersuchungen an Kleintieren beträgt häufig nur wenige Stunden (Dreyfuss und Saumon 1998), nur selten wird länger als sechs Stunden beatmet.

Mit der gewählten 4-stündigen Beatmungsdauer in der vorliegenden Untersuchung war zum einen die Erfassung der Effekte inflammatorischer Kaskaden, die eine biologische „Entwicklungszeit“ benötigen, als auch eine Messung hämodynamischer und respiratorischer, zeitabhängiger Verläufe möglich.

Die im konkreten Versuch angewendeten Beatmungsstrategien sind angelehnt an vorausgehende Experimente der Arbeitsgruppe. Bei diesen Untersuchungen wurden junge Ratten eingesetzt, die hinsichtlich Alter und Körpergewicht mit der Gruppe „Jungtiere“ in der vorliegenden Studie vergleichbar waren (Schreiber et al. 2006). Es konnte gezeigt werden, dass ab einem Tidalvolumen von 24ml/kg KG eine starke pulmonale Schädigung auftritt und bei darüber liegendem Tidalvolumen eine sehr hohe Mortalität schon während der Beatmungsphase besteht. In der Annahme, dass die Empfindlichkeit alter Tiere gegenüber aggressiver Beatmung erhöht ist, wählten wir daher für die vorliegende Studie ein Tidalvolumen von maximal 24 ml/kg KG um eine Lungenschädigung zu provozieren. Zur Detektion eventueller dosisabhängiger Effekte des Tidalvolumens, wurde zusätzlich eine Gruppe mit moderat erhöhtem Tidalvolumen (16ml/kg KG) definiert.

Ein Tidalvolumen von ca. 8ml/kg KG bei beatmeten Kleintieren wurde von mehreren wissenschaftlichen Arbeitsgruppen als schonend bzw. protektiv bewertet. Daher wurde dieses Tidalvolumen von uns für die Anwendung einer mutmaßlich nicht schädigenden Beatmung herangezogen.

Wir wendeten bei allen Beatmungseinstellungen einen mäßigen PEEP an. Da auch die Nicht-Anwendung von PEEP über den Mechanismus eines Atelektrauma schädigend wirken kann (Pinhu et al. 2003), erreichten wir auf diese Weise eine Fokussierung auf die durch erhöhtes Tidalvolumen hervorgerufenen Effekte. Unsere Daten reflektieren also am ehesten die Effekte eines sogenannten Volutrauma.

Als Folge des angewendeten stark erhöhten Tidalvolumens mit konsekutiver Hyperventilation der Tiere wäre mit einer arteriellen Hypokapnie im Versuchsverlauf zu rechnen gewesen. Da gezeigt wurde, dass veränderte CO₂ -Partialdrücke das Ausmaß einer Lungenschädigung beeinflussen können (Doerr et al. 2005), haben wir bei Anwendung hoher Tidalvolumina, durch Zuführung von CO₂ mit dem Inspirationsgas, eine Normokapnie aufrecht erhalten. Alternativ hätte eine Reduktion der Atemfrequenz zur Vermeidung von Hypokapnie eingesetzt werden können.

Allerdings wäre dann die Beatmungsstrategie zwischen den Gruppen nicht mehr vergleichbar gewesen.

Grundsätzlich muss bei der Durchführung komplexer Beatmungsstudien am Kleintier methodenbedingt mit einer gewissen Letalität während der Beatmungsphase gerechnet werden. Da für einige der von uns erhobenen Messwerte (insbesondere für die inflammatorischen Marker) eine zeitabhängige Ausprägung bekannt ist, wurden in unserer Untersuchung bei Tieren, die weniger als drei Stunden Beatmung überlebten, keine postmortalen Messwerte erhoben (wie z.B. Lungenlavage, Nass-Trocken-Gewichtsbestimmung der Lunge). Hierdurch vermieden wir, dass solche Marker aus einem Datenpool bestimmt wurden, der sehr unterschiedliche Versuchszeitpunkte widerspiegelt.

6.2.Diskussion der Ergebnisse

Der ungünstige Effekt aggressiver Beatmung bei gealterten Tieren zeigte sich in unserer Untersuchung an einer Reihe von Schädigungsmarkern. Hierbei lassen sich rein pulmonale Veränderungen von systemischen Effekten trennen.

Pulmonale Inflammation ist ein wesentliches Kennzeichen beatmungsinduzierter Lungenschädigung. Diese bahnt wiederum konsekutiv funktionelle Beeinträchtigungen durch z.B. entzündliche Veränderungen der alveolokapillären Membran. So kann ein Lungenödem (erkennbar an einer Zunahme des Nass-Trocken-Gewichtsverhältnisses, sowie Verschlechterung der Lungencompliance) und hierdurch eine Störung der Oxygenierung (Verschlechterung des paO_2) entstehen.

Die inflammatorische Reaktion zeigt sich auch an zellulären und humoralen Veränderungen in der Lungenlavage. Die von uns untersuchten inflammatorischen Parameter, wie IL-6, IL-1 β und Leukozytenpopulationen in der Lungenlavage, sind vielfach geprüfte und von vielen Arbeitsgruppen eingesetzte Marker, die geeignet sind, frühe entzündliche Veränderungen zu erfassen.

So zeigte sich im Fall des Interleukin 6 ein deutlicher altersabhängiger Konzentrationsunterschied in der Lavage unter dem Einfluss hoher Tidalvolumina (24ml/kg KG). Hier hatten gealterte Tiere signifikant höhere Konzentrationen als die korrespondierenden Jungtiere.

Bei den Makrophagen und neutrophilen Granulozyten in der bronchoalveolären Lavage hatten gealterte Tiere mit schädigenden Tidalvolumina (24ml/kg KG) geringere Zellzahlen als die korrespondierenden Jungtiere. Hinsichtlich der

Abnahme von Makrophagen in der BAL bei gealterten Tieren wurde dieser Effekt auch schon nach schädigender Beatmung von jungen erwachsenen Ratten in anderen Untersuchungen gezeigt (Schreiber et al. 2006). Der Einfluss von altersabhängig unterschiedlich aktivierten bzw. freigesetzten Faktoren, welche auf die Leukozytenmigration wirken, wäre eine spekulative Erklärung für diese Ergebnisse.

In der Zusammenschau besteht das Bild einer pro- inflammatorischen Reaktion gealterter Tiere. Allerdings zeigen nicht alle untersuchten inflammatorischen Marker eindeutige Veränderungen. Unter anderem konnten wir für die pro- inflammatorischen Zytokine MIP 2 α und Interleukin 1 β in der Lavage keine beatmungs- oder altersabhängigen Effekte nachweisen. Dies bezüglich könnten die von anderen Autoren gezeigten zeitabhängigen Konzentrationsveränderungen (Tremblay et al. 1997) eine Rolle spielen.

Neben den pulmonalen inflammatorischen Veränderungen fanden wir bei den alten Tieren auch eine verstärkte systemische entzündliche Reaktion bei Beatmung mit hohem Tidalvolumen. Diese könnte auch eine Erklärung für die bei diesen Tieren beobachtete verstärkte hämodynamische Beeinträchtigung bis hin zur Ausbildung einer schweren Kreislaufdepression sein. In mehreren Untersuchungen konnte z.B. ein Zusammenhang zwischen der Konzentration an IL-1 β im Blut und entstehender Kreislaufdepression gezeigt werden (Gardiner et al. 1998). Wir nehmen an, dass ein solcher Effekt auch in unserer Studie eine Rolle gespielt hat. Die Tatsache, dass die IL-1 β Serumkonzentrationen in der Gruppe der gealterten Tiere mit hohem Tidalvolumen am höchsten war, ist ein Indiz dafür.

Wir setzten in unserer Studie die Messung des Herzzeitvolumens als invasives hämodynamisches Monitoring ein. Der deutliche Abfall des HZV, bei gleichzeitig eher unauffälligem Verlauf des ZVD, kann als Hinweis auf die systemischen Folgen der inflammatorischen Reaktion gewertet werden.

Letztendlich kann die vermehrte Mortalität während der Beatmungsphase, die bei den mit hohem Tidalvolumen beatmeten gealterten Tieren beobachtet wurde, als schlimmste Ausprägung eines möglichen Kontinuums der beatmungsinduzierten Schädigung interpretiert werden.

6.3. Diskussion der Ergebnisse der Studie im Kontext der bisherigen Datenlage

Es gibt nur wenige experimentelle Untersuchungen zum Einfluss des Lebensalters auf die beatmungsinduzierte Lungenschädigung. Zudem untersuchen die Mehrzahl dieser wenigen Untersuchungen die Effekte künstlicher Beatmung in den frühen Lebensphasen, also vom Neugeborenen- bis zum Jugendalter. Aus diesen Untersuchungen lässt sich ein Einfluss des Lebensalters auf die beatmungsinduzierte Lungenschädigung ableiten, allerdings sind die Ergebnisse nicht einheitlich. Es finden sich z.B. sowohl Hinweise auf eine erhöhte (Kornecki et al. 2005), als auch auf eine verminderte (Chan et al. 2006) Empfindlichkeit gegenüber aggressiver Beatmungseinstellung im sehr jungen Alter. Somit lässt sich aus diesen Daten zwar mutmaßen, dass die Reaktion der Lunge auf künstliche Beatmung im fortgeschrittenen Alter anders ist als im jungen Erwachsenenalter, aber nicht in welcher Hinsicht die Lunge alter Tiere anders reagiert.

Es gibt nach unserem Kenntnisstand bisher nur eine experimentelle Untersuchung, die gezielt die Effekte künstlicher Beatmung bei erwachsenen Versuchstieren unterschiedlichen Alters vergleicht (Nin et al. 2008). In dieser an Ratten durchgeführten Studie wurden ähnliche Altersgruppen (3-4 Monate versus 22-24 Monate) wie in unseren Experimenten verwendet. Auch diese Autoren fanden stärkere Schädigungen und Beeinträchtigungen unter aggressiver Beatmung in der Gruppe der alten Tiere. Allerdings war das Spektrum erfasster Schädigungsmarker im Vergleich zu unserer Untersuchung deutlich eingeschränkt. Nur Blutgasanalysen, hämodynamische Messwerte, Atemwegsdrücke, IL-6 und Transaminasen im Blut wurden bestimmt. Als weitere wesentliche Unterschiede zu unserer Studie sind die kürzere Beatmungszeit (1 Stunde) und die noch aggressivere Beatmungsstrategie zu nennen. In dieser Studie von Nin wurde ein Tidalvolumen von 35 ml/kg KG ohne PEEP angewendet und somit die Lunge am ehesten durch eine Kombination aus Volutrauma und Atelektrauma geschädigt.

Insgesamt erweitern unsere Ergebnisse den bisherigen Kenntnisstand von altersabhängigen Effekten bei Beatmung mit hohen Tidalvolumina. Die Durchführung einer Beatmungsphase von 4 Stunden erlaubt die Erfassung zeitabhängiger biologischer Reaktionen, wie z.B. entzündlicher Veränderungen. Das breite Spektrum funktionell orientierter Parameter erleichtert es die Relevanz entzündlicher Veränderungen einzuschätzen.

6.4. Limitierung und Schwächen der Studie

Die alten Tiere unserer Studie repräsentieren keine völlig homogene Altersgruppe. In vorausgehenden Beobachtungen der Arbeitsgruppe fiel auf, dass bei den Ratten der gewählten Zucht, etwa ab dem 22. Lebensmonat spontane Todesfälle auftraten. Um zu vermeiden, dass Tiere bereits in der Wartephase verstarben, wurde daher festgelegt, dass Tiere ab einem Mindestalter von 15 Monaten in die Studie eingeschlossen werden konnten. Zwar ist durch dieses Vorgehen keine präzise Eingrenzung auf eine Altersgruppe, die z.B. der letzten Lebensphase entspricht, möglich. Allerdings ist der Unterschied im mittleren Alter der beiden Tiergruppen (ca. 4 versus ca. 19 Monate) doch so groß, dass die Aussage, dass wir junge erwachsene mit gealterten Tieren vergleichen, berechtigt erscheint.

Bezüglich der Übertragbarkeit unserer Ergebnisse auf beatmete Patienten muss berücksichtigt werden, dass es nach unserer Kenntnis keine validen Daten gibt, die es erlauben die gewählten Altersgruppen der Ratten einem konkreten menschlichen Lebensalter zuzuordnen. Zwar erscheint die Annahme plausibel, dass auch in der alternden menschlichen Lunge keine grundsätzlich völlig von der Ratte abweichende Reaktion auf künstliche Beatmung ausgelöst wird. Eine Aussage darüber ob diese Effekte aber z.B. ab der 6. oder z.B. erst ab der 8. Lebensdekade einsetzen, kann aus unserer Studie nicht abgeleitet werden.

Weitere Einschränkungen unserer Studie ergeben sich aus methodischen Aspekten der Narkoseführung bzw. Flüssigkeitsinfusion. Wir wendeten in beiden Altersgruppen die gleichen Dosierungen für Narkotika und intravenöse Flüssigkeit an. Somit fand keine Anpassung an mögliche altersbedingte Unterschiede in Stoffwechsel, Flüssigkeitsbedarf und Pharmakokinetik der Versuchstiere statt. Eine unterschiedliche Beeinflussung der Hämodynamik in den beiden Altersgruppen durch solche Effekte ist daher denkbar. Die gemessenen hämodynamischen Parameter während der Beatmungsphase sprechen allerdings nicht dafür. Zudem erschien uns eine am Alter orientierte Dosierung der genannten Substanzen auf Grund von für beatmete Ratten fehlenden Referenzdaten nicht möglich.

Das breite Spektrum der in der vorliegenden Untersuchung erfassten Schädigungsmarker erleichtert, im Gegensatz zur Fokussierung auf die Rolle eines einzelnen Parameters, eine Einschätzung der Plausibilität und der Relevanz

einzelner Veränderungen. Allerdings ermöglicht die Methodik der Studie es nicht kausale Zusammenhänge der beobachteten Effekte zu identifizieren.

6.5. Schlussfolgerung und Ausblick

Für die experimentelle Forschung bedeuten die Ergebnisse unserer Studie, dass die grundsätzlichen Effekte der VILI, bei jungen erwachsenen Tieren, auch für gealterte Tiere gelten.

Zwar kann die Frage, ob auch gealterte Patienten ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer VALI haben und wo eine eventuell vorhandene, ungefähre Altersgrenze liegt, hier nicht mit Sicherheit beantwortet werden. Das liegt vor allem an der begrenzten Übertragbarkeit von Ergebnissen aus dem experimentellen Tierversuch auf den Menschen. So entwickelt sich beispielsweise ein Lungenödem unter schädigender Beatmung bei Großtieren viel langsamer als bei beatmeten Kleintieren wie Ratten (IntConsensusConference 1999). Aber es ist unwahrscheinlich, dass ältere Patienten völlig unterschiedlich auf eine schädigende Beatmung reagieren, als gealterte Versuchstiere. Daher ist unsere Studie auch die klinische Praxis relevant.

So ist das Konzept protektiver Beatmung für Intensivpatienten mit schwerer Lungenschädigung bereits bekannt. Im Kontext mit dieser Untersuchung muss jetzt speziell über eine hohe Bedeutung dieser Maßnahmen beim gealterten Beatmungspatienten nachgedacht werden. Weitere Studien könnten aufzeigen, ob es sinnvoll ist, z.B. bei älteren Patienten mit ARDS früher, oder nach anderen Kriterien auf eine ultraprotektive Beatmung (mit noch geringeren Tidalvolumina pro kg Körpergewicht) umzustellen. Auch die Indikation für andere Lungenersatz- oder Unterstützungsverfahren müssten in Zusammenhang mit dem Patientenalter möglicherweise neu beurteilt werden.

Solche Ersatzverfahren sind z.B. die Anwendung extrakorporaler Oxygenierungsverfahren (ECMO) bei schwersten Oxygenierungsstörungen.

Damit könnten diese experimentellen Ergebnisse aus dem Forschungslabor über patientenbezogene Studien zu einer Umsetzung in die klinische Praxis führen.

Zumindest sollten ältere Patienten konsequent nach den Grundsätzen protektiver Beatmung therapiert werden, um das das Auftreten einer VALI zu vermeiden bzw. deren Ausmaß bestmöglich zu verringern. Das Ziel ist eine Überblähung (noch)

gesunder Alveolen zu verhindern. Dies ist so problematisch, da deren Anteil im ARDS äußerst gering sein kann (*baby lung*).

Protektive Beatmung kann aber auch ein Umdenken erfordern:

Nämlich gezielt niedrige Tidalvolumina anzuwenden und Plateaudrucke zu begrenzen, anstatt ausschließlich die Normalisierung funktioneller Parameter wie paO_2 und $paCO_2$ anzustreben. Die Mehrzahl der Patienten mit ARDS verstirbt am Multiorganversagen und nicht an einer Hypoxie (Ware und Matthay 2000). Die Mediatoren, welche bei der beatmungsinduzierten Lungenschädigung freigesetzt werden spielen auch bei der Entwicklung eines Multiorganversagens und somit bei der Sterblichkeit eine Rolle. So wurde nachgewiesen, dass hohe IL-1 β und IL-6 Konzentrationen im Blut bei Patienten mit ARDS mit einem schlechterem Outcome verbunden sind (Meduri et al. 1995). Freisetzung von Mediatoren aus der geschädigten Lunge und deren Übertritt in den systemischen Kreislauf tragen also mit hoher Wahrscheinlichkeit zu Progredienz und Persistenz eines Multiorganversagens bei.

8. Anhang

Danksagung

Ich danke Herrn PD Dr. med. Torsten Schreiber, Chefarzt der Abteilung für Intensiv- und Notfallmedizin der Zentralklinik Bad Berka, für die Überlassung des Themas, die sehr gute wissenschaftliche Anleitung und die freundliche, stetig aufmunternde Hilfe zu jeder Zeit.

Auch bei Prof. Dr. med. Konrad Reinhart, Direktor der Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der FSU Jena, möchte ich mich für seine Unterstützung bedanken.

Frau Barbara Schmidt, MTA im Institut für Versuchstierkunde der FSU Jena, danke ich vor allem für die geduldige Einführung in die Methoden der tierexperimentellen Forschung und ihre unermüdliche, gewissenhafte Arbeit, die eine wesentliche Grundlage bei der Erstellung dieser Studie war.

Für die kollegiale Unterstützung in der Arbeitsgruppe des tierexperimentellen Zentrums der FSU Jena und ihren Rat bei methodischen Fragen danke ich Dr. med. Lars Hüter und Dr. med. Florian Setzer.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

PD Dr. med. T. Schreiber, Chefarzt Abteilung Intensiv- und Notfallmedizin der Zentralklinik Bad Berka

Frau B. Schmidt, MTA an der FSU Jena

Dr. Dr. T. Hartung, Steinbeis Transferzentrum Konstanz

Dr. C. Löbel und Dr. S. Retzlaff, Labor Löbel Retzlaff Jena,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Blankenhain, 6.1.1014

Karsten Oschatz

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Karsten Oschatz
Anschrift: Paulinenstrasse 27, 99444 Blankenhain
Geburtsdatum: 9.1.1980
Geburtsort: Weimar
Familienstand: ledig, 2 Kinder

Werdegang:

1986 Einschulung in die Friedrich Leßner Oberschule Blankenhain
1991-1998 Albert Schweitzer Gymnasium Blankenhain und Abschluss der Hochschulreife
09/1998- 08/2001 Ausbildung zum Krankenpfleger am Sophien- und Hufeland Klinikum Weimar
10/2001-07/2002 Ableistung des Zivildienstes in der Funktion eines Krankenpflegers auf der Intensivstation der Zentralklinik Bad Berka GmbH
08/2002-09/2003 Berufstätigkeit als Krankenpfleger auf der ITS der Zentralklinik Bad Berka
10/2003-12/2009 Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller Universität Jena
2008-2009 praktisches Jahr

seit 02/2010 Assistenzarzt der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin, Zentralklinik Bad Berka
08/2012-01/2013 befristete Anstellung im Rahmen der Facharztausbildung in der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin des Sophien und Hufeland Klinikum Weimar

Blankenhain, 6.1.2014

7. Literatur

- Andreollo NA, Santos EF, Araujo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? *Arq Bras Cir Dig*, 25 (1):49-51.
- ARDS-network. 2000. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. *N Engl J Med*, 342 (18):1301-1308.
- Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, Legall JR, Morris A, Spragg R. 1994. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med*, 149 (3 Pt 1):818-824.
- Bouhuys A. 1969. Physiology and musical instruments. *Nature*, 221 (5187):1199-1204.
- Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, Matthay MA, Morris A, Ancukiewicz M, Schoenfeld D, Thompson BT. 2004. Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 351 (4):327-336.
- Brun-Buisson C, Minelli C, Bertolini G, Brazzi L, Pimentel J, Lewandowski K, Bion J, Romand JA, Villar J, Thorsteinsson A, Damas P, Armaganidis A, Lemaire F. 2004. Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Results from the ALIVE study. *Intensive Care Med*, 30 (1):51-61.
- Chan A, Jayasuriya K, Berry L, Roth-Kleiner M, Post M, Belik J. 2006. Volutrauma activates the clotting cascade in the newborn but not adult rat. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 290 (4):L754-L760.
- Chiumello D, Carlesso E, Cadringer P, Caironi P, Valenza F, Polli F, Tallarini F, Cozzi P, Cressoni M, Colombo A, Marini JJ, Gattinoni L. 2008. Lung stress and strain during mechanical ventilation for acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 178 (4):346-355.
- Doerr CH, Gajic O, Berrios JC, Caples S, Abdel M, Lymp JF, Hubmayr RD. 2005. Hypercapnic acidosis impairs plasma membrane wound resealing in ventilator-injured lungs. *Am J Respir Crit Care Med*, 171 (12):1371-1377.
- Dreyfuss D, Saumon G. 1998. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*, 157 (1):294-323.
- Dreyfuss D, Soler P, Basset G, Saumon G. 1988. High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure. *Am Rev Respir Dis*, 137 (5):1159-1164.
- El Solh AA, Ramadan FH. 2006. Overview of respiratory failure in older adults. *J Intensive Care Med*, 21 (6):345-351.
- Fu Z, Costello ML, Tsukimoto K, Prediletto R, Elliott AR, Mathieu-Costello O, West JB. 1992. High lung volume increases stress failure in pulmonary capillaries. *J Appl Physiol*, 73 (1):123-133.
- Gammon RB, Shin MS, Groves RH, Jr., Hardin JM, Hsu C, Buchalter SE. 1995. Clinical risk factors for pulmonary barotrauma: a multivariate analysis. *Am J Respir Crit Care Med*, 152 (4 Pt 1):1235-1240.
- Gardiner SM, Kemp PA, March JE, Woolley J, Bennett T. 1998. The influence of antibodies to TNF-alpha and IL-1beta on haemodynamic responses to the cytokines, and to lipopolysaccharide, in conscious rats. *Br J Pharmacol*, 125 (7):1543-1550.
- Gattinoni L, Pelosi P, Pesenti A, Brazzi L, Vitale G, Moretto A, Crespi A, Tagliabue M. 1991. CT scan in ARDS: clinical and physiopathological insights. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl*, 95:87-94; discussion 94-86.
- Halbertsma FJ, Vaneker M, Scheffer GJ, van der Hoeven JG. 2005. Cytokines and biotrauma in ventilator-induced lung injury: a critical review of the literature. *Neth J Med*, 63 (10):382-392.

- Hernandez LA, Peevy KJ, Moise AA, Parker JC. 1989. Chest wall restriction limits high airway pressure-induced lung injury in young rabbits. *J Appl Physiol*, 66 (5):2364-2368.
- Ibs KH, Rink L. 2001. [The immune system in aging]. *Z Gerontol Geriatr*, 34 (6):480-485.
- IntConsensusConference. 1999. International consensus conferences in intensive care medicine: Ventilator-associated Lung Injury in ARDS. This official conference report was cosponsored by the American Thoracic Society, The European Society of Intensive Care Medicine, and The Societe de Reanimation de Langue Francaise, and was approved by the ATS Board of Directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med*, 160 (6):2118-2124.
- Kornecki A, Tsuchida S, Ondiveeran HK, Engelberts D, Frndova H, Tanswell AK, Post M, McKerlie C, Belik J, Fox-Robichaud A, Kavanagh BP. 2005. Lung development and susceptibility to ventilator-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 171 (7):743-752.
- Lachmann B. 1992. Open up the lung and keep the lung open. *Intensive Care Med*, 18 (6):319-321.
- Matthay MA. 1994. Function of the alveolar epithelial barrier under pathologic conditions. *Chest*, 105 (3 Suppl):67S-74S.
- Mead J, Takishima T, Leith D. 1970. Stress distribution in lungs: a model of pulmonary elasticity. *J Appl Physiol*, 28 (5):596-608.
- Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R, Leeper K. 1995. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest*, 107 (4):1062-1073.
- Montgomery AB, Stager MA, Carrico CJ, Hudson LD. 1985. Causes of mortality in patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis*, 132 (3):485-489.
- Mulligan MS, Warner RL, Foreback JL, Shanley TP, Ward PA. 1997. Protective effects of IL-4, IL-10, IL-12, and IL-13 in IgG immune complex-induced lung injury: role of endogenous IL-12. *J Immunol*, 159 (7):3483-3489.
- Nin N, Lorente JA, De Paula M, Fernandez-Segoviano P, Penuelas O, Sanchez-Ferrer A, Martinez-Caro L, Esteban A. 2008. Aging increases the susceptibility to injurious mechanical ventilation. *Intensive Care Med*, 34 (5):923-931.
- Pinhu L, Whitehead T, Evans T, Griffiths M. 2003. Ventilator-associated lung injury. *Lancet*, 361 (9354):332-340.
- Pugin J. 2003. Molecular mechanisms of lung cell activation induced by cyclic stretch. *Crit Care Med*, 31 (4 Suppl):S200-206.
- Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *Jama*, 307 (23):2526-2533.
- Schreiber T, Hueter L, Schwarzkopf K, Hohlstein S, Schmidt B, Karzai W. 2006. Increased susceptibility to ventilator-associated lung injury persists after clinical recovery from experimental endotoxemia. *Anesthesiology*, 104 (1):133-141.
- Slutsky AS. 2005. Ventilator-induced lung injury: from barotrauma to biotrauma. *Respir Care*, 50 (5):646-659.
- Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS. 1997. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest*, 99 (5):944-952.
- Vlahakis NE, Schroeder MA, Limper AH, Hubmayr RD. 1999. Stretch induces cytokine release by alveolar epithelial cells in vitro. *Am J Physiol*, 277 (1 Pt 1):L167-173.
- Ware LB, Matthay MA. 2000. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 342 (18):1334-1349.
- Weg JG, Anzueto A, Balk RA, Wiedemann HP, Pattishall EN, Schork MA, Wagner LA. 1998. The relation of pneumothorax and other air leaks to mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 338 (6):341-346.

Zapol WM, Snider MT, Hill JD, Fallat RJ, Bartlett RH, Edmunds LH, Morris AH, Peirce EC, 2nd, Thomas AN, Proctor HJ, Drinker PA, Pratt PC, Bagniewski A, Miller RG, Jr. 1979. Extracorporeal membrane oxygenation in severe acute respiratory failure. A randomized prospective study. *Jama*, 242 (20):2193-2196.